

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Influência das substâncias húmicas no crescimento e produção de duas cultivares de soja

Lucas Guilherme Araujo Soares
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

LUCAS GUILHERME ARAUJO SOARES

Influência das substâncias húmicas no crescimento e produção de duas cultivares de soja

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

Orientadora: Junia Maria Clemente

Coorientador: Felipe Lopes da Silva

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

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

T

S676i
2025

Soares, Lucas Guilherme Araujo, 1993-

Influência das substâncias húmicas no crescimento e
produção de duas cultivares de soja / Lucas Guilherme Araujo
Soares. – Viçosa, MG, 2025.

1 dissertação eletrônica (54 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Júnia Maria Clemente.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Agronomia, 2025.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.313>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Soja - Crescimento. 2. Nutrição mineral. 3. *Glycine max*.
4. Ácidos húmicos. I. Clemente, Júnia Maria, 1985-
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia.
III. Título.

CDD 22. ed. 633.34

LUCAS GUILHERME ARAUJO SOARES

Influência das substâncias húmicas no crescimento e produção de duas cultivares de soja

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

APROVADA: 17 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

Lucas Guilherme Araujo Soares
Autor

Junia Maria Clemente
Orientadora

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 21/05/2025 às 19:08:27 e pela orientadora em 22/05/2025 às 09:27:33. 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 **9SNB.1SKI.FPAU** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Á Deus, pela força, saúde e sabedoria.

Aos meus pais e familiares, pela força e incentivo durante toda a trajetória do mestrado.

À minha orientadora, Prof.^a Junia Maria Clemente, pela orientação, pelos valiosos conselhos, sabedoria transmitida, amizade, confiança e competência pelo grande exemplo de profissionalismo durante toda a etapa de orientação.

Aos professores, Felipe Lopes da Silva, Hermínia Emília Prieto Martinez, José Ivo Ribeiro Júnior e Paulo Roberto Cecon pelos grandes ensinamentos nas disciplinas, ideias e sugestões na elaboração do trabalho de dissertação e pela amizade construída neste período.

Aos técnicos do Laboratório de Análise de Tecidos Vegetal e de Pós- Colheita, Itamar, Edmaldo e Zé Maurício pelos ensinamentos, atenção e auxílio nas realizações das análises.

Ao técnico e ao estagiário do Programa de Melhoramento de Milho-pipoca do DBG/UFV, Leandro e Matheus Ribeiro pelos ensinamentos e atenção na realização das análises no WinRHIZO.

À Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Agronomia, e ao programa de Pós Graduação em Fitotecnia pela oportunidade de aprimoramento, disponibilidade de estrutura, equipamentos e reagentes para realização da pesquisa.

Aos amigos do Laboratório de Análise de Tecidos Vegetais, Carlos Valmison, Pedro Hermínio, Gabriel Fernandes, Sabrina Vidal e Edimar Campos por toda ajuda na execução da pesquisa e pelo companheirismo durante o período de mestrado.

Aos servidores da UEPE- Aeroporto, Adão e Roberto por toda ajuda e contribuição na condução do experimento.

Aos amigos Carlos Valmison, Maricélio Souza, Thiago Fernandes, Tiago Nogueira, Wesley Louis, Selton Santos, Pedro Hermínio, Gabriel Fernandes, Marcos Leandro, Anderson Oliveira, Marcos Almeida, Jorge Cá, Sabrina Vidal e Igor Feijão por todos os momentos de ajuda, alegria e confraternização.

Meus agradecimentos a todos que contribuíram de alguma forma, direta ou indiretamente, para o êxito desta pesquisa.

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).

“Dedico a quem trabalha de sol a sol, acreditando na força da terra”

RESUMO

SOARES, Lucas Guilherme Araujo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Influência das substâncias húmicas no crescimento e produção de duas cultivares de soja.** Orientadora: Junia Maria Clemente. Coorientador: Felipe Lopes da Silva.

O Brasil se consolidou como o maior produtor mundial de soja em 2020, com produção de 139,5 milhões de toneladas, destacando-se no cenário agrícola global. O avanço dessa commodity no país está relacionado às tecnologias adotadas pelos produtores, como cultivares resistentes, bioinsumos e práticas de manejo da adubação para atender a real demanda nutricional da cultura. Assim, este estudo foi dividido em dois capítulos com objetivo de avaliar a influência das substâncias húmicas (SHs) no crescimento e produção de duas cultivares de soja (Glycine Max L.). No capítulo 1, o experimento foi conduzido em esquema fatorial (2x4) + 2 (2 cultivares - TMG 2372 IPRO e TMG 2374 IPRO e combinação de 2 doses de substâncias húmicas - 2,2 e 4,4 g L⁻¹ e duas épocas de aplicação - Plantio e R1) mais dois tratamentos controle sem aplicação de substâncias húmicas, no DIC com 5 repetições, totalizando 50 unidades experimentais. Avaliaram-se o teor de macro e micronutrientes, diâmetro do coleto, altura de plantas, números de folhas, massa seca de raiz e folhas e morfologia de raiz. Não houve diferença significativa quanto ao diâmetro do coleto, altura de plantas, número de folhas, produção e morfologia de raiz, exceto diâmetro médio de raiz, para ambas as cultivares entre as doses de substâncias húmicas e épocas de aplicação. Contudo, houve diferença significativa entre as doses de substâncias húmicas e épocas de aplicação. Os resultados não diferiram em relação ao controle quanto aos teores dos macronutrientes para ambas as cultivares, teores dos micronutrientes apenas para TMG 2372 IPRO, matéria seca de raiz, parte aérea e massa seca total apenas para TMG 2374 IPRO e morfologia de raiz e diâmetro médio de raiz para a cultivar TMG 2372 IPRO. No capítulo 2, o experimento foi conduzido em esquema fatorial (2x4) + 2 (2 cultivares - TMG 2372 IPRO e TMG 2374 IPRO e combinação de 2 doses de substâncias húmicas - 2,2 e 4,4 g L⁻¹ e 2 épocas de aplicação - Plantio e R1) mais dois tratamentos controles sem aplicação de SHs sob delineamento inteiramente ao acaso com 5 repetições, totalizando 50 unidades experimentais. Avaliaram-se a fluorescência da clorofila, a atividade da superóxido dismutase e o teor de proteína em folhas na fase de enchimento de grãos. Houve diferença significativa para as características avaliadas entre as doses de substâncias húmicas e as épocas de aplicação, no entanto os resultados não diferiram em relação à

testemunha quanto à fluorescência da clorofila para ambas as cultivares. A atividade da superóxido dismutase foi superior quando aplicadas 2,2 e 4,4 g L⁻¹ no plantio, e o teor de proteínas, para as diferentes doses apresentaram maiores médias, exceto para a dose de 2,2 g L⁻¹ no plantio, que não diferiu do controle.

Palavras-chave: Nutrição mineral; *Glycine max* L.; ácidos fúlvicos ; ácidos húmicos

ABSTRACT

SOARES, Lucas Guilherme Araujo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. **Influence of humic substances on the growth and production of two soybean cultivars.** Adviser: Junia Maria Clemente. Co-adviser: Felipe Lopes da Silva.

Brazil became the world's largest soybean producer in 2020, with 139.5 million tons, standing out on the global agricultural stage. The expansion of this commodity in the country is linked to the high level of technology adopted by producers, such as resistant cultivars, bioinputs, and management practices aimed at meeting the crop's actual nutritional demands. Thus, this work was divided into two chapters with the objective of evaluating the influence of humic substances on the growth and yield of two soybean cultivars (*Glycine max* L.). In Chapter 1, the experiment was conducted in a factorial scheme (2x4) + 2 (2 cultivars – TMG 2372 IPRO and TMG 2374 IPRO; combination of 4 doses of humic substances – 2, 2.2, and 4.4 g L⁻¹; and 2 application times – planting and R1), plus two control treatments without the application of humic substances, in a randomized complete block design with five replications, totaling 50 experimental units. Macronutrient and micronutrient content, stem diameter, plant height, number of leaves, dry mass of roots and leaves, and root morphology were evaluated. No significant differences were found for stem diameter, plant height, number of leaves, yield, and root morphology, except for average root diameter for both cultivars among the doses and application times of humic substances. However, there was a significant difference between the doses and times of application. The results did not differ from the control regarding macronutrient content for both cultivars, micronutrient content only for TMG 2372 IPRO, root dry mass, shoot dry mass, and total dry mass only for TMG 2374 IPRO, and root morphology only for average root diameter for TMG 2372 IPRO. In Chapter 2, the experiment was conducted under the same factorial scheme (2x4) + 2 (2 cultivars – TMG 2372 IPRO and TMG 2374 IPRO; combination of 4 doses of humic substances – 2, 2.2, and 4.4 g L⁻¹; and 2 application times – planting and R1), plus two control treatments without the application of humic substances, in a randomized complete block design with five replications, totaling 50 experimental units. Chlorophyll fluorescence, superoxide dismutase activity, and protein content were evaluated during the grain-filling stage. There were significant differences for the evaluated characteristics between the doses and times of application. However, the results did not differ from the control regarding chlorophyll fluorescence for both cultivars. The activity of superoxide

dismutase was higher when 2.2 and 4.4 g L⁻¹ were applied at planting, and the protein content showed higher averages across the different doses, except for the 2.2 g L⁻¹ dose at planting, which did not differ from the control.

Keywords: Mineral nutrition; *Glycine max* L.; fulvic acids ; humic acids.

SUMÁRIO

1.0. INTRODUÇÃO GERAL	11
2.0. OBJETIVOS.....	12
2.1. Objetivos geral.....	12
2.2. Objetivos específicos.....	12
REFERÊNCIAS.....	13
1.0. INTRODUÇÃO.....	14
2.0. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
2.1. Caracterização do local do estudo	15
2.2. Delineamento experimental e tratamentos	16
2.3. Tratos culturais, material vegetal, irrigação e condução do experimento	16
2.4. Avaliações biométricas e nutricional.....	17
2.5. Análises estatísticas	18
3.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
3.1. Crescimento vegetativo das plantas de soja	18
3.2. Concentração de macro e micronutrientes de plantas de soja em estágio R2	21
3.3. Avaliação do estado nutricional das plantas de soja aos 75 DAS	24
3.4. Produção de biomassa em soja submetida à aplicação de substâncias húmicas	29
3.5. Indicadores de produção.....	30
3.6. Morfobiometria de raízes de soja submetidas à aplicação de substâncias húmicas	31
4.0. CONCLUSÕES.....	33
REFERÊNCIAS.....	33
1.0. INTRODUÇÃO.....	38
2.0. MATERIAL E MÉTODOS.....	39
2.1. Caracterização do local do estudo	39
2.2. Delineamento experimental e tratamentos	40
2.3. Tratos culturais, material vegetal, irrigação e condução do experimento	40
2.4. Avaliação da fluorescência da clorofila.....	41
2.5. Avaliações bioquímicas.....	42
2.6. Análises estatísticas	42
3.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
3.1. Fluorescência da clorofila a.....	43
3.2 Análises de Proteína e SOD	46

4.0. CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS.....	50
APÊNDICE.....	53

1.0. INTRODUÇÃO GERAL

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das principais culturas agrícolas cultivadas no Brasil, com área plantada, na safra 2023/24, de 45,9 milhões de hectares e produção de 145,27 milhões de toneladas (IBGE, 2024). O avanço da commodity no país está relacionado às tecnologias adotadas pelos produtores, como o uso eficiente de insumos para atender a real demanda nutricional da soja. Nesse sentido, a aplicação de substâncias húmicas (SH) na agricultura tem ganhado destaque devido aos seus potenciais benefícios para o solo e para as plantas (Otto, 2021; Silva *et al.*, 2021; Adhikary; Basak., 2024).

O húmus do solo é um composto orgânico de grande complexidade formado por biomoléculas simples e também por outras complexas, conhecidas por SHs. As substâncias húmicas representam cerca de 80% da matéria orgânica do solo e são reconhecidas por suas propriedades bioestimulantes. As SHs possuem em sua composição os ácidos fúlvicos, que são solúveis tanto em pH ácido quanto em pH alcalino, ácidos húmicos que se dissolvem em pH alcalino, mas são insolúveis em pH ácido e as huminas que permanecem insolúveis tanto em pH ácido quanto em pH alcalino. A fração de ácidos húmicos pode ser separada em cinza e marrom, com diferenças de solubilidade em pH neutro e em condições de alta força iônica (Stevenson., 1994; Urrutia *et al.*, 2020).

Acredita-se que as SHs podem melhorar o estado nutricional das plantas, através do estímulo à expressão gênica que controla as bombas de prótons da membrana plasmática (H^+ -ATPase) nas raízes, aumenta sua atividade e facilita o transporte de íons para os tecidos vegetais. Há também relatos de que as SHs podem regular a expressão de genes transportadores de nutrientes nas raízes que intensificam a atividade de enzimas que melhoram o aproveitamento dos nutrientes, como a redutase do nitrato, sintetase da glutamina, sintase do glutamato e a fosfoenolpiruvato carboxilase (Urrutia *et al.*, 2020).

Estudos demonstram que as SHs apresentam efeitos benéficos em diversos grupos de plantas, incluindo as leguminosas, contudo tais efeitos com a aplicação via folha ainda são poucos explorados quanto a doses e fontes. É importante destacar que provavelmente o efeito benéfico no crescimento das plantas causado pela aplicação de SHs nas folhas provavelmente ocorre por mecanismos diferentes daqueles que atuam quando essas substâncias são aplicadas nas raízes (Olaetxea *et al.*, 2019).

A relação entre os efeitos positivos que as SHs promovem nas plantas e sua estrutura molecular tem sido tema de muitos estudos, que frequentemente apresentam resultados divergentes (Pizzeghello *et al.*, 2020). Apesar desses possíveis efeitos benéficos aos vegetais, ainda é necessário aprofundar o entendimento sobre os mecanismos de ação e os processos de

regulação que estimulam as respostas das plantas submetidas às SHs, e/ou fertilizantes à base de SHs aplicados via foliar ou via solo (Moura *et al.*, 2023).

2.0.OBJETIVOS

2.1.Objetivos geral

Avaliar a influência das substâncias húmicas no crescimento e produção de duas cultivares de soja (*Glycine max* L.) em Viçosa -MG

2.2.Objetivos específicos

- Avaliar o crescimento e a produção da soja com a aplicação de substâncias húmicas;
- Avaliar o estado nutricional de plantas de soja com a aplicação de substâncias húmicas;
- Avaliar os efeitos da aplicação de substâncias húmicas na fase vegetativa da soja quanto ao aumento da biomassa, atividade fotossintética e metabolismo antioxidativo.

REFERÊNCIAS

ADHIKARY, T.; BASAK, P. The paradigm shift towards utilizing nanofertilizers paves a promising future in industrial agriculture and soilless cultivation. **Hybrid Advances**, p. 100255, 2024.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de recuperação automática. SIDRA: Levantamento sistemático da produção agrícola. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/7832>. Acesso em: 06 out. 2024.

MOURA, O. V. T.; BERBARA, R. L. L.; OLIVEIRA, T. D. F.; SILVA, H. F. O.; CASTRO, T. A. V. T.; TAVARES, O. C. H.; GARCÍA, A. C. Humic foliar application as sustainable technology for improving the growth, yield, and abiotic stress protection of agricultural crops. A review. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 22, n. 8, p. 493-513, 2023.

OLAETXEA, M.; MORA, V.; BACAICOA, E.; BAIGORRI, R.; GARNICA, M.; FUENTES, M.; GARCÍA-MINA, J. M. Root ABA and H⁺-ATPase are key players in the root and shoot growth-promoting action of humic acids. **Plant Direct**, v. 3, n. 10, p. e00175, 2019.

OTTO, R. Tecnologia e inovação em grãos. **Outlook GlobalFert 2021**. Parte 1: Inovação e boas práticas em nutrição vegetal, p. 170, 2021. Disponível em: <https://www.globalfert.com.br/OGFposEvento/arquivo/Outlook-GlobalFert-2021.pdf>. Acesso em: 08 nov. de 2024.

PIZZEGHELLO, D.; SCHIAVON, M.; FRANCIOSO, O.; DALLA, V. F.; ERTANI, A.; NARDI, S. Bioactivity of size-fractionated and unfractionated humic substances from two forest soils and comparative effects on N and S metabolism, nutrition, and root anatomy of *Allium sativum* L. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 1203, 2020.

SILVA, A. M. S. R.; SANTOS, B. M. S.; CHÁVEZ, D. W. H.; OLIVEIRA, R.; SANTOS, C. H. B.; OLIVEIRA, E. C.; RIGOBELLO, E. C. K-humate as an agricultural alternative to increase nodulation of soybeans inoculated with *Bradyrhizobium*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 36, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102129>. Acesso em: 29 nov. de 2024.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry: Genesis, composition, reactions**. 2 ed. John Wiley, New York, USA. 1994, 496p.

URRUTIA, O.; FUENTES, M.; OLAETXEA, M.; GARNICA, M.; BAIGORRI, R.; MOVILA, M.; GARCIA-MINA, J. M. The effect of soil organic matter on plant mineral nutrition. In: **Achieving sustainable crop nutrition**. Burleigh Dodds Science Publishing, 2020. p. 291-306.

CAPÍTULO 1

EFEITO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS NA NUTRIÇÃO E PRODUTIVIDADE DA SOJA EM VIÇOSA - MG

1.0. INTRODUÇÃO

O Brasil se consolidou como o maior produtor mundial de soja em 2020, com 139,5 milhões de toneladas, destacando-se no cenário agrícola global. Juntamente com outros países produtores da América do Sul, a região é responsável por aproximadamente 55% da produção mundial (USDA, 2024). O sucesso da cultura no Brasil está relacionado, dentre outros fatores, ao uso de insumos agrícolas que promovem benefícios ao desenvolvimento das plantas, como o uso de bactérias fixadoras de N e bioestimulantes, como as substâncias húmicas (SHs) (Silva *et al.*, 2021).

As SHs são ricas em colóides orgânicos e matéria orgânica e desempenham papel fundamental na melhoria da estrutura do solo (Silva *et al.*, 2023). As SHs também podem agir como agente cimentante, unindo partículas dispersas que favorecem a formação de uma estrutura granular. Tal processo melhora a aeração e a permeabilidade do solo à água, além de aumentar sua capacidade de retenção de umidade, criando condições para o pleno desenvolvimento das plantas. Além disso, podem promover e regular o crescimento das plantas, estimular o desenvolvimento radicular, aumentar a área superficial das raízes, modificar a arquitetura e promover o surgimento de maior número de raízes laterais que melhoram a eficiência de absorção de água e nutrientes (Jin *et al.*, 2024).

Diversos estudos destacam que as SHs estimulam o crescimento radicular em diferentes culturas que é um efeito atribuído à sua ação semelhante às auxinas. Além disso, as SHs têm sido reconhecidas por melhorar a nutrição das plantas e fortalecer suas respostas a estresses bióticos e abióticos, através da produção de metabólitos secundários (Canellas; Olivares, 2014). Também, as SHs contribuem para o aumento da respiração, intensifica o processo de fotossíntese e eleva os teores de clorofila. Além disso, potencializa a nutrição mineral e promove a produção de ATP que é essencial para o fornecimento de energia às atividades metabólicas (Rosa *et al.*, 2021).

De acordo com Visser, (1983) as SHs possuem um efeito surfactante e isto causa um aumento da permeabilidade da membrana plasmática favorecendo a entrada de íons para a célula, sugerindo que a aplicação de SHs via folha parece ser uma estratégia interessante para

corrigir possíveis deficiências de elementos exigidos em pequenas quantidades (B, Cu, Fe, Zn e Mn) durante os ciclos de produção da soja, feijão e milho.

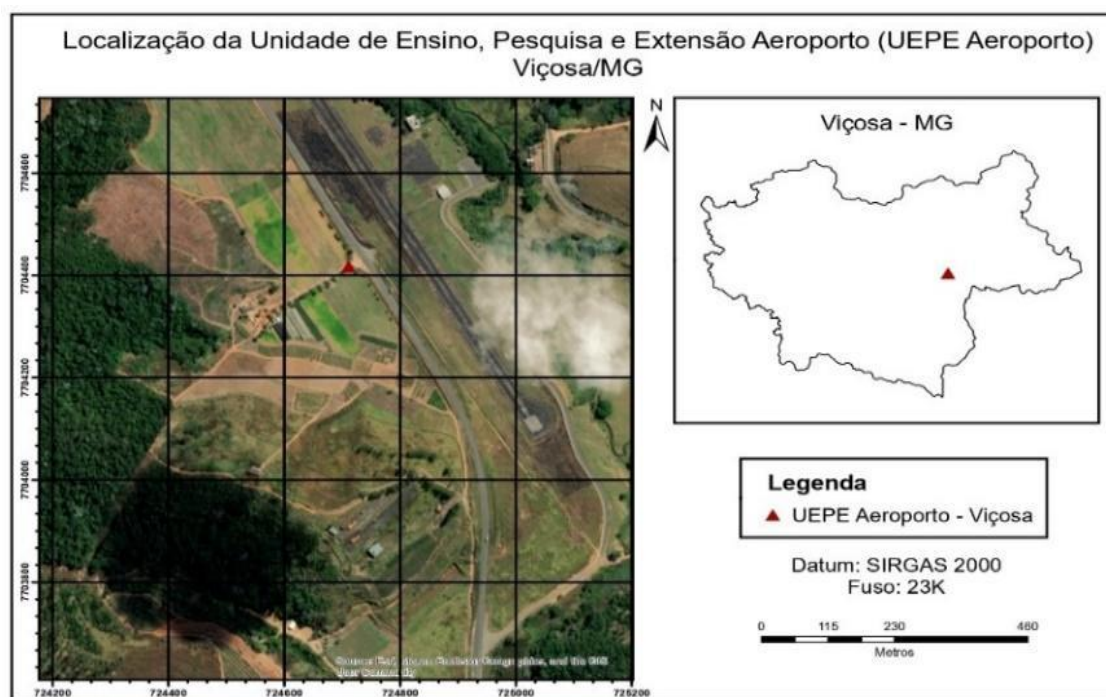
O objetivo do estudo foi avaliar o efeito das substâncias húmicas no estado nutricional, crescimento e produção de duas cultivares de soja em Viçosa-MG

2.0. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Caracterização do local do estudo

O experimento foi realizado, entre janeiro e abril de 2024, por meio de um experimento conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa, pertencente ao Departamento de Agronomia, na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão – UEPE – Aeroporto, no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, localizada na Microrregião da Zona da Mata ($1^{\circ}44'5.87''S$ e $47^{\circ}3'28.38''O$) (Figura 1). O clima da região segundo classificação de Köppen-Geiger é do tipo Cwa (subtropical de inverno seco), e altitude de 675 m (Fialho; Santos, 2022).

Figura 1. Mapa de localização da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão (UEPE- Aeroporto).



Fonte: Autor (2025).

As plantas de soja foram cultivadas em vasos de 35 L contendo solo classificado como Latossolo Vermelho Amarelo (Embrapa., 2013). Para a caracterização do solo da área experimental, foram coletadas (0 a 20 cm) amostras simples de solo para compor uma amostra composta, a qual foi enviada a um laboratório privado para avaliação química (Tabela 1).

Tabela 1 - Características químicas do solo (0 - 20 cm) utilizado no cultivo da soja

Solo	pH (água)	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al		
		mg/dm ³			cmol _c /dm ³				
0-20	6,0	5,7	40	2,23	0,62	0	2,97		
V	SB	t	T	MO	Fe	Mn	Cu	Zn	
%	cmol _c /dm ³			dag/kg	mg/dm ³				
49,8	2,95	2,95	5,92	2,7	35,9	25,8	0,9	0,9	

pH em água, KCl e CaCl₂ - Relação 1:2,5; P - Na - K - Fe - Zn - Mn - Cu - Extrator Mehlich-1; Ca - Mg - Al - Extrator: KCl - 1 mol/L; H + Al - Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol/L - pH 7,0; B - Extrator água quente; S - Extrator - Fosfato monocálcico em ácido acético; CTC (t) - Capacidade de Troca Catiônica Efetiva; CTC (T) - Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0; V = Índice de Saturação de Bases; m = Índice de Saturação de Alumínio; Matéria Orgânica (MO) = C.Org x 1,724 - Walkley-Black.

2.2. Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi conduzido em esquema fatorial (2x4) + 2 (cultivares e combinação de doses e época de aplicação), mais dois tratamentos controle sem aplicação de substâncias húmicas, sob delineamento inteiramente ao acaso com 5 repetições, totalizando 50 unidades experimentais. Os tratamentos consistiram na aplicação de solução contendo substâncias húmicas, nas cultivares TMG 2372 IPRO[®] denominada cultivar 1 (C1) e TMG 2374 IPRO[®] denominada cultivar 2 (C2), contendo doses de produto comercial que garantia 2,2 g e 4,4 g de carbono (C) orgânico/L de calda, por ocasião da semeadura e em R1 (início da floração).

2.3. Tratos culturais, material vegetal, irrigação e condução do experimento

As adubações nitrogenada, fosfatada e potássica foram realizadas de acordo com a produtividade esperada para as cultivares e análise de solo (Tabela 1), e as recomendações para o cultivo da soja (Ribeiro et al., 1999), o tratamento controle recebeu, a mesma concentração de N, P e K. Para todos os tratamentos, foi realizada, no plantio, a adubação nitrogenada (150 kg ha⁻¹ de N) via sulfato de amônio (20% de N e 22% de S) e adubação fosfatada (120 kg ha⁻¹ de P₂O₅) na forma de superfosfato triplo (46 % de P₂O₅). Também, em todos os tratamentos, foi feita a adubação mineral potássica (120 kg ha⁻¹ de K₂O) na forma de cloreto de potássio (58 % de K₂O), dividindo-se as doses em duas quantidades iguais. A primeira aplicação de K foi realizada no plantio, juntamente com a adubação fosfatada, e a segunda aos 21 dias após a semeadura (DAS), mesma ocasião da aplicação do N mineral. Todos os fertilizantes minerais foram aplicados a uma profundidade aproximada de 5 cm da superfície do solo.

As cultivares utilizadas foram a TMG 2372 IPRO[®] e TMG 2374 IPRO[®]; a TMG 2372 IPRO apresenta hábito de crescimento indeterminado e grau de maturação relativo (GMR) de

7.2, e a TMG 2374 IPRO apresenta crescimento semideterminado e GMR 7.4. Quatro sementes foram semeadas por vaso e aos 17 dias após a emergência foi feito o desbaste restando 2 plantas por vaso. A contagem de nós se iniciou a partir da emissão das folhas unifolioladas (Silva et al., 2022).

O experimento foi irrigado através de sistema de aspersão com um timer acoplado com programação para irrigações diárias de meia hora; após o estágio V3 a irrigação foi desligada a fim de evitar problemas com ataque de doenças nas plantas e o solo de cada vaso teve sua capacidade de campo mantida.

Para o controle de pragas, como ácaro-rajado (*Tretanychus urticae*) e ácaro-branco (*Polyphagotarsonemus latus*), aos 69 e 82 DAS, foi feita a aplicação de Abamectin prentiss[®]. Para o controle da vaquinha (*Cerotoma arcuata tingomariana*), aos 30 DAS, foi aplicado o Connect[®], e como preventivo aos 82 DAS, foi aplicado o Amistar Top[®], para prevenir ataques de fungos fitopatogênicos como a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) e antracnose (*Colletotrichum truncatum*). Todos os inseticidas e fungicidas foram aplicados com auxílio de bombas elétricas costal com capacidade de 20 L.

A aplicação das SHs foi realizada em duas épocas: na semeadura, e no estágio R1, início do florescimento, que representou o início do estágio reprodutivo das plantas, o qual ocorreu aos 44 DAS. Foram aplicadas doses de produto comercial que garantia 2,2 e 4,4g de carbono (C) orgânico/L de calda, e aplicadas com auxílio de bomba borrifadora automática com capacidade de 1,5 L, sendo que cada dose foi preparada em bomba única para cada tratamento. A aplicação dos tratamentos ocorreu no período da manhã, isolando-se cada vaso em suas extremidades para evitar a deriva para os demais tratamentos.

2.4. Avaliações biométricas e nutricional

As características vegetativas avaliadas foram o número de folhas (NF), altura de plantas (AP) e diâmetro do caule (DC) a 5 cm acima da superfície do solo aos 33 e 70 dias após o plantio. Por ocasião da colheita, foram avaliados o volume radicular, comprimento de raiz, área superficial de raiz, diâmetro médio de raiz, matéria seca do sistema radicular, matéria seca de parte aérea, número de vagens por planta, número de grãos por planta e massa de 100 grãos (M100).

As raízes foram conservadas em uma solução de álcool a 30% e transportadas para o laboratório de Genética (DBG), onde foram digitalizadas utilizando um scanner EPSON Expression 11000XL. As imagens foram obtidas no software WinRHIZO Pro 2013, para

avaliar características como área superficial, comprimento, diâmetro e volume radicular. O volume foi medido pelo deslocamento de água causado pela introdução das raízes em uma proveta graduada de 1000 mL para raízes com maior diâmetro que não foi possível fazer leitura pelo equipamento. Após a coleta de dados, as raízes foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 65 °C por 72 h até atingir massa constante, para determinação da biomassa.

Na fase de florescimento pleno (R2), e no enchimento de grãos (R5), foram amostradas folhas índices da soja para avaliação do estado nutricional das plantas, no qual foi identificada a partir do ápice da haste principal da planta até o terceiro trifólio com pecíolo (Flores et al., 2019). Para determinação dos teores nutricionais em folhas da soja, os materiais foram secos em estufa a 65 °C até atingir massa constante. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas e moídas em moinho tipo Willey®. A quantificação dos teores de nutrientes foi realizada pelos seguintes métodos: N por titulometria (método Kjeldahl), P, K, Ca, Mg, S e micronutrientes foi realizada a digestão nitroperclórica e em seguida a quantificação do P foi feita por colorimetria e o S por turbidimetria do cloreto de bário (BaCl₂). A quantificação do Ca, Mg e micronutrientes metálicos foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica; o K quantificado por fotometria de chama (Malavolta., 1997). A concentração dos macronutrientes foi dada em g kg⁻¹ e micronutrientes em mg kg⁻¹.

2.5. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados no software Agrostat® (BARBOSA; M. ALDONADO JUNIOR, 2015), e as tabelas foram geradas com auxílio do Software Microsoft Excel versão 2016.

3.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Crescimento vegetativo das plantas de soja

O crescimento em altura das plantas de soja aos 33 DAS não foi influenciado significativamente pela aplicação de SHs (Tabela 2). Porém, houve diferenças significativas entre as cultivares quanto à altura de plantas e número de folhas para todos os tratamentos e as respostas foram superiores na cultivar TMG 2372 IPRO (Tabela 2). O diâmetro do coleto também diferiu entre as cultivares quanto à aplicação de 2,2 e 4,4 g L⁻¹ em R1, com melhor resultado na TMG 2374 IPRO (Tabela 2).

Tabela 2. Crescimento em altura de plantas – AP (cm), diâmetro do coleto - DC (mm) e número de folhas – NF, aos 33 dias após a semeadura de soja submetidas à aplicação de substâncias húmicas

Tratamentos	AP		DC		NF	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2
Controle	38,16 Aa	28,74 Ba	6,23 Aa	5,98 Aa	19,12 Aa	10,72 Ba
2,2 g/L + Plantio	38,44 Aa	33,46 Ba	6,49 Aa	6,94 Aa	19,50 Aa	14,70 Ba
2,2 g/L + R1	37,16 Aa	32,43 Ba	5,71 Ba	7,29 Aa	16,70 Aa	13,20 Ba
4,4 g/L + Plantio	38,77 Aa	30,39 Ba	6,27 Aa	6,72 Aa	19,20 Aa	12,90 Ba
4,4 g/L + R1	37,13 Aa	31,88 Ba	6,29 Ba	7,23 Aa	20,30 Aa	13,80 Ba
Média	37,93	31,38	6,2	6,83	18,96	13,06
CV%	9,01		10,6		14,21	

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada cultivar, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

As duas cultivares avaliadas neste estudo possuem diferentes hábitos de crescimento e desenvolvimento. Esse comportamento já era esperado, considerando as diferenças genéticas entre as cultivares, bem como seus hábitos de crescimento e ciclos de maturação (Zuffo *et al.*, 2022).

O crescimento da soja, aos 70 DAS, também não foi influenciado pelos tratamentos com SHs em relação ao controle para ambas as cultivares (Tabela 3). Por outro lado, houve diferenças significativas entre as cultivares para o diâmetro do coleto com aplicação de 2,2 g L⁻¹ no plantio e em R1 e as médias foram superiores na cultivar TMG 2374 IPRO (Tabela 3).

Tabela 3. Crescimento em altura de plantas – AP (cm), diâmetro do coleto - DC (mm) e número de folhas – NF, aos 70 dias após a semeadura da soja submetidas à aplicação de substâncias húmicas

Tratamento	AP		DC		NF	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2
Controle	67,77 Aa	58,49 Aa	8,72 aA	10,01 aA	96,05 aA	71,00 aA
2,2 g/L + Plantio	66,84 Aa	65,37 Aa	8,41 aB	11,72 aA	93,30 aA	92,90 aA
2,2 g/L + R1	68,89 Aa	63,82 Aa	9,12 aB	11,16 aA	107,50 aA	107,40 aA
4,4 g/L + Plantio	61,71 Aa	62,26 Aa	8,74 aA	10,40 aA	92,60 aA	88,90 aA
4,4 g/L + R1	67,20 Aa	60,30 Aa	9,26 aA	10,40 aA	82,10 aA	72,90 aA
Média	66,48	62,04	8,85	10,73	94,31	86,62
CV%	12,79		15,35		25,79	

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada cultivar, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Segundo Prado et al., (2016) em estudo com aplicação de 5 doses de fertilizante organomineral enriquecido com substâncias húmicas via solo e dois teores de umidade do solo na cultura da soja (cultivar TMG 132 RR) observaram que as doses do fertilizante enriquecido com SHs de 5 a 6 mL dm⁻³ de solo, causou maior incremento em altura de plantas, o que não foi observado no presente estudo durante as duas avaliações, provavelmente pelo fato das pequenas doses utilizadas nos tratamentos (Tabela 2 e 3). Ponce et al., (2024) não observaram efeito significativo quanto ao diâmetro do caule e altura de plantas aos 78 DAS quando aplicados 2, 4 e 6 L h⁻¹ de biofertilizante contendo SHs na cultivar de soja PIONEER 90Y30, o que também não foi observado no presente estudo utilizando as cultivares TMG 2372 IPRO e TMG 2374 IPRO (Tabela 3). De acordo com Baldotto et al. (2014), a aplicação de doses reduzidas de SHs pode promover estímulos positivos na fisiologia vegetal. No entanto, concentrações mais elevadas destes compostos tendem a exercer efeito inibitório, resultando em redução do crescimento das plantas.

Os resultados do presente estudo estão de acordo com os resultados observados por Santos (2020) que estudou a cultura da soja (cultivar M5917 IPRO) utilizando dois tipos de bioestimulantes comerciais com garantia de 42 e 54,74 g L⁻¹ de carbono orgânico total, respectivamente. Não foi observado efeito significativo no número médio de folhas após os 28 DAS, comparativamente ao controle nas diferentes avaliações realizadas, quando aplicadas diferentes doses desses produtos. Tais resultados corroboram com os encontrados no presente

estudo, em que diferentes doses de SHs não proporcionaram maior incremento no número de folhas nas plantas de soja das diferentes cultivares. Contudo, houve aumento no número médio de folhas com aplicação de $2,2 \text{ g L}^{-1}$ de C. orgânico em R1. Isso indica que as plantas que receberam SHs na seguinte dosagem apresentaram maior capacidade fotossintética, uma vez que o número de folhas (NF) proporciona o aumento. Isso ocorre porque uma maior quantidade de folhas resulta em uma maior extensão de área para captar energia luminosa necessária ao processo de fotossíntese (Silva et al., 2020). Além disso, influencia diretamente na produção de matéria seca (Barbosa et al., 2022).

3.2. Concentração de macro e micronutrientes de plantas de soja em estágio R2

Os teores de macronutrientes nas folhas não diferiram significativamente em função das doses de SHs aplicadas entre as duas cultivares de soja avaliadas, exceto para o P na cultivar TMG 2374 IPRO (Tabela 4). Para essa cultivar, o teor de P em folhas de soja foi superior com a aplicação de $2,2 \text{ g L}^{-1}$ em R1 (Tabela 4). Também houve diferenças significativas entre as cultivares quanto aos teores de Ca e Mg na dose de $2,2 \text{ g L}^{-1}$ no plantio, e R1 para Ca e Mg respectivamente, para a TMG 2374 IPRO. O teor de S também diferiu, sendo que o tratamento controle apresentou média superior na cultivar TMG 2372 IPRO.

Tabela 4. Teores de macronutrientes em folhas de plantas de soja, em R2, submetidas à aplicação de substâncias húmicas.

Tratamentos	N		P		K		Ca		Mg		S	
	g kg ⁻¹											
	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2
Controle	4,42 aA	4,47 aA	4,62 abA	4,76 aA	8,86 aA	8,9 aA	2,98 aA	3,01 aA	0,64 aA	0,56 aA	1,75 aA	1,30 aB
2,2 g/L + Plantio	4,35 aA	4,11 aA	3,96 bA	4,31 aA	9,11 aA	9,15 aA	3,42 aA	2,48 aA	0,68 aB	0,47 aA	1,69 aA	1,50 aA
2,2 g/L + R1	4,60 aA	4,24 aA	5,13 aA	5,21 aA	9,61 aA	8,44 aB	2,79 aB	4,19 aA	0,65 aA	0,67 aA	1,64 aA	1,51 aA
4,4 g/L + Plantio	4,33 aA	4,47 aA	4,49 abA	4,58 aA	9,39 aA	8,67 aA	3,38 aA	3,68 aA	0,77 aA	0,66 aA	1,58 aA	1,56 aA
4,4 g/L + R1	4,64 aA	4,27 aA	4,17 abA	4,01 aA	9,14 aA	9,03 aA	2,94 aA	2,75 aA	0,57 aA	0,57 aA	1,57 aA	1,31 aA
Média	4,47	4,31	4,47	4,58	9,22	8,84	3,10	3,22	0,66	0,59	1,65	1,44
CV%	7,45		14,19		8,79		28,62		22,05		13,73	

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada cultivar, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para Sousa e Lobato (2004), os teores foliares de N, P, K, Ca, Mg e S considerados adequados é entre 45-55; 2,5-5,0; 17-25; 4,0-20; 3,0-10 e 2,1-4,0 g kg⁻¹ de massa seca, respectivamente. Diante disso, verifica-se valores abaixo do considerado adequado para N, K, Ca, Mg e S. Embora os valores estejam abaixo da faixa de suficiência, os tratamentos atingiram valores próximo da referência para Ca e S, o que talvez esteja relacionado à baixa mobilidade do Ca no floema (Prado., 2008), e a baixa quantidade de matéria orgânica presente no solo ou à demanda diferencial das cultivares por S (Tabela 4).

Em relação ao teor de micronutrientes nas folhas, não houve diferenças significativas entre os tratamentos com SHs aplicados nas cultivares TMG 2372 e TMG 2374 IPRO. Houve diferenças significativas apenas entre as cultivares, para os teores de Fe e Cu, quando aplicados e 2,2 g L⁻¹ no plantio e R1, e 4,4 g L⁻¹ no plantio para a cultivar TMG 2374 IPRO. Desse modo, o teor de Fe foi maior para a cultivar TMG 2374 IPRO, assim como o teor de Cu, que também diferiu entre as cultivares para o tratamento 2,2 g L⁻¹ no plantio, tendo média superior dentre os tratamentos.

Tabela 5. Teor de micronutrientes em folhas de soja, em R2, submetidas à aplicação de substâncias húmicas

Tratamento	Zn		Mn		Fe		Cu	
	mg kg ⁻¹							
	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2
Controle	8,27 aA	8,27 aA	62,98 aA	63,93 aA	85,42 aA	98,03 aA	3,01 aA	2,82 aA
2,2 g/L + Plantio	10,14 aA	8,82 aA	69,73 aA	67,88 aA	80,29 aB	99,00 aA	2,54 aB	4,41 aA
2,2 g/L + R1	9,31 aA	8,63 aA	68,28 aA	66,45 aA	85,26 aB	103,90 aA	3,16 aA	2,58 aA
4,4 g/L + Plantio	8,57 aA	11,31 aA	71,46 aA	68,04 aA	88,93 aB	103,10 aA	3,16 aA	2,75 aA
4,4 g/L + R1	9,05 aA	10,90 aA	57,41 aA	65,17 aA	84,99 aA	95,54 aA	2,73 aA	2,82 aA
Média	9,07	9,58	65,97	66,29	84,97	99,91	2,92	3,07
CV%	25,51		13,06		11,16		30,08	

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada cultivar, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

De acordo com Malavolta *et al.* (1997), os teores foliares de Zn, Mn, Fe e Cu considerados adequados são entre 21-50; 21-100; 51-350 e 10-30 mg kg⁻¹ de massa seca respectivamente. Diante disso, verifica-se valores abaixo do considerado adequado para Zn e Cu. (Tabela 5).

3.3. Avaliação do estado nutricional das plantas de soja aos 75 DAS

Os teores de macronutrientes não diferiram entre os tratamentos nas folhas da cultivar TMG 2372 IPRO, exceto para P e Ca (Tabela 6). Para essa mesma cultivar, o teor foliar de P foi estatisticamente inferior quando aplicado $4,4 \text{ g L}^{-1}$ em R1. Também, os teores de Ca em folhas de plantas que receberam $4,4 \text{ g L}^{-1}$ no plantio foram estatisticamente superiores ao tratamento controle. Para a cultivar TMG 2374 IPRO, os teores de N, Ca, Mg e S não diferiram entre os tratamentos. O teor de P em folhas de plantas que receberam $2,2 \text{ g L}^{-1}$ em R1 foi estatisticamente inferior ao tratamento controle e ao tratamento com $2,2 \text{ g L}^{-1}$ na semeadura (Tabela 6). Quanto aos teores de K, observou-se média estatisticamente superior com aplicação de $4,4 \text{ g L}^{-1}$ em R1. Os teores de K foram estatisticamente inferiores, até mesmo em relação ao controle, com a aplicação de $2,2 \text{ g L}^{-1}$ no plantio e em R1 (Tabela 6).

Tabela 6. Teor de macronutrientes em folhas de plantas de soja, em estágio R5, submetidas à aplicação de substâncias húmicas

Tratamento	N		P		K		Ca		Mg		S	
	g kg ⁻¹											
	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2
Controle	3,52 aA	3,13 aA	7,50 abA	8,14 aA	6,84 aB	11,97 abA	7,52 bA	6,07 aA	0,99 aA	0,83 aA	1,50 aA	1,29 aB
2,2 g/L + Plantio	2,75 aA	3,32 aA	7,33 abA	8,04 abA	5,96 aB	8,68 cA	7,88 abA	6,63 aA	1,00 aA	0,85 aA	1,57 aA	1,20 aA
2,2 g/L + R1	2,61 aA	3,25 aA	8,30 aA	6,38 cB	6,29 aA	7,78 cA	8,92 abA	6,27 aB	1,27 aB	0,68 aA	1,34 aA	1,33 aA
4,4 g/L + Plantio	3,23 aA	2,99 aA	8,70 aA	7,74 abcA	5,84 aB	9,84 bcA	9,98 aA	6,99 aB	1,25 aA	0,94 aA	1,48 aA	1,26 aA
4,4 g/L + R1	3,52 aA	3,18 aA	7,14 bA	6,75 bcA	6,94 aB	14,16 aA	7,69 abA	6,85 aA	0,95 aA	0,82 aA	1,41 aA	1,09 aB
Média	3,12	3,17	7,79	7,41	6,37	10,49	8,39	6,56	1,09	0,82	1,46	1,23
CV%	18,65		10,03		21,15		17,29		29,84		14,46	

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada cultivar, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Segundo Canellas e Santos (2005), as SHs ocasionam um aumento na absorção de nutrientes através do aumento da permeabilidade da membrana plasmática e a ativação da H⁺-ATPase da membrana. As H⁺-ATPases, também denominadas bombas de prótons, são enzimas transmembranares responsáveis pela hidrólise do ATP, gerando energia e estabelecendo um gradiente de potencial eletroquímico. Tais processos são essenciais ao crescimento e desenvolvimento vegetal, incluindo a energização de sistemas secundários de transporte iônico, que viabilizam a absorção eficiente de macro e micronutrientes, além do aumento da plasticidade da parede celular, favorecendo a divisão celular (Rodda *et al.*, 2006).

O baixo teor de N pode ser ocasionado pela baixa taxa de mineralização da matéria orgânica do solo, além de afetar a nodulação das plantas de soja. Estudos de Tunçtürk, Kulaz e Tunçtürk (2016) com aplicação de ácidos húmicos via tratamento de sementes em duas cultivares de soja, observaram teores de N de 0,19 e 0,21 g kg⁻¹ respectivamente, valores muito abaixo dos recomendados por Sousa e Lobato (2004) que está entre 45 e 55 g kg⁻¹. Embora os teores de N tenham sido baixos, as plantas não apresentaram sintomas visuais de deficiência, o que pode ser explicado pelo alto crescimento das plantas (Tabela 1) ocasionando a diluição do nutriente (Maia *et al.*, 2005; Prado *et al.*, 2016).

Quanto ao P, o incremento desse nutriente pode estar associado à maior disponibilidade do elemento no solo (Prado *et al.*, 2016). Isso porque as SH's podem inibir a adsorção de P através dos hidróxidos de ferro e alumínio, além de competir diretamente pelos mesmos sítios na fração mineral, dificultando sua retenção no solo. Também Rosa *et al.*, (2009) em estudos com substâncias húmicas em diferentes doses na cultura do feijão em solução nutritiva, observou diferenças significativas para o P, com valores semelhantes aos encontrados neste estudo.

Sobre esse assunto, é importante destacar que a matéria orgânica do solo atua como um reservatório natural de N, P e S, além de outros nutrientes que interagem com ela, incluindo os micronutrientes (Silva, 2023). Desse modo, Prado *et al.*, (2016) em estudos com fertilizante organomineral enriquecido com SHs em soja cultivadas em solo com alta quantidade de matéria orgânica observaram maiores teores de S quando cultivadas sob estresse hídrico. Tal aumento pode estar relacionado a alta taxa de mineralização da matéria orgânica, uma vez que os fertilizantes organominerais possuem, potencialmente, moléculas orgânicas e substâncias húmicas que favorecem a atividade dos microrganismos decompositores no solo (Silva; Morais., 2023). Sabe-se que a redução da disponibilidade de matéria orgânica do solo leva a uma redução da absorção de nutrientes pelas plantas, inclusive para o N e S, afetando também a eficiência de uso (Chiodini *et al.*, 2013). Contudo, nesse experimento foi observado resultado

semelhante para o N e S, em que o solo cultivado com soja apresentava médio teor de matéria orgânica (Tabela 1).

As substâncias húmicas presentes nos fertilizantes organominerais favoreceram o aumento dos teores foliares de K, que pode ter favorecido o K já presente na composição do fertilizante (Prado *et al.*, 2016). Também Ponce *et al.*, (2022) em estudos com aplicação de diferentes bioestimulantes a base de SHs na cultura do milho observaram redução no teor de K quando aplicado um bioestimulante que garante 5,5% de SHs, 4% de N, 1% de P e 3% de K, o que pode estar relacionado pela baixa concentração de SHs e por obter menos nutrientes minerais em sua composição quando comparado aos demais bioestimulantes estudados. Outro fator que pode ter ocasionado a redução da absorção de K e Mg, e aumento no teor de Ca neste estudo, pode estar relacionado a uma possível inibição competitiva do Ca com o K ou Mg pelo mesmo sítio do carregador a nível da membrana plasmática, causando diminuição desse nutriente nas folhas (Lima *et al.*, 2011).

De forma geral, o aumento na absorção de um cátion pode levar à redução na absorção de outro, devido à interação competitiva entre os nutrientes por sítios de transporte na raiz (Marschner, 2012). Esse efeito foi observado nesta pesquisa, em que a maior absorção de K causou redução da absorção de Mg, evidenciando a interação entre esses nutrientes no solo e na planta. Esses resultados destacam que o efeito antagônico do K na absorção de Mg é mais intenso do que sobre a absorção de Ca.

Em relação ao teor de Ca, Matuszak-Slamani *et al.*, (2022) em estudos com aplicação de ácidos húmicos foliar em mudas de soja cultivadas em solução nutritiva observaram resultados positivos para o teor de Ca, com dados que corroboram com os que foram encontrados no presente estudo. Os mesmos autores encontraram diferenças significativas para os teores de Mg dentre os tratamentos avaliados, comparativamente ao controle, diferente do atual estudo em que não se observou diferenças significativas entre os diferentes tratamentos quando doses distintas de SHs foram aplicadas. Pesquisas conduzidas por Ferreira *et al.* (2007) indicam que a aplicação de bioestimulantes pode não resultar em incrementos na absorção de nutrientes pelas plantas e, em determinadas situações, até restringi-la. Esse comportamento sugere que a resposta fisiológica das culturas a esses insumos está condicionada a múltiplos fatores, incluindo a espécie vegetal e a composição química das substâncias húmicas presentes nos produtos comerciais.

Para a cultivar TMG 2372 IPRO, não houve diferença significativa quanto aos teores de Zn e Cu. Para essa mesma cultivar, os teores de Mn e Fe foram estatisticamente superiores com a aplicação de 4,4 g L⁻¹ no plantio e diferiu do tratamento com a aplicação de 4,4 g L⁻¹ em R1.

Para a cultivar TMG 2374 IPRO, não houve diferença estatística entre os tratamentos quanto aos teores dos micronutrientes (Tabela 7).

Tabela 7. Teor de micronutrientes em folhas de plantas de soja, em R5, submetidas à aplicação de substâncias húmicas

Tratamentos	Zn		Mn		Fe		Cu	
	mg kg ⁻¹							
	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2
Controle	10,84 aA	13,60 aA	76,33 abA	66,77 aA	92,84 abA	81,48 aA	2,08 aA	2,52 aA
2,2 g/L + Plantio	9,05 aB	14,37 aA	84,98 abA	65,44 aA	82,26 bA	89,76 aA	1,88 aA	2,21 aA
2,2 g/L + R1	10,69 aA	14,11 aA	84,47 abA	63,72 aA	101,08 aA	75,71 aB	1,81 aB	2,68 aA
4,4 g/L + Plantio	9,55 aA	13,08 aA	114,73 aA	71,51 aB	90,87 abA	81,31 aA	2,17 aA	1,88 aA
4,4 g/L + R1	7,78 aB	13,65 aA	69,81 bA	63,49 aA	83,39 bA	81,18 aA	2,11 aA	2,53 aA
Média	9,53	13,76	85,92	66,18	90,08	81,88	2,01	2,36
CV%	23,88		29,74		10,79		21,44	

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada cultivar, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O zinco (Zn) é um micronutriente que limita a produção da maioria das culturas devido possuir baixa concentração no solo e, por estar adsorvido às argilas (Prado., 2008). O teor baixo de Zn pode estar relacionado à não formação de complexos solúveis, os quais aumentam a disponibilidade de Zn para as plantas. A redução na absorção de Zn pode ser explicada por uma possível interação competitiva com o Fe a nível de membrana celular, ocorrendo no sítio ativo dos transportadores de íons (Lima et al., 2011). Tais resultados apontados por Lima et al. (2011) está de acordo com Akinci et al. (2009) que avaliaram a aplicação de ácidos húmicos na cultura da fava, via tratamentos de sementes e não observaram diferenças significativas para o teor de Zn em raízes de fava. Também Rosa et al. (2021) em estudos com diferentes concentrações de carbono em plantas de milho observou redução na translocação do Zn.

Entretanto, Prado et al. (2016) observaram menores teores de Zn em folhas índices após a aplicação de fertilizantes organominerais. Embora os autores tenham observado menores teores nas folhas diagnósticas, tais teores se encontravam dentro da faixa de suficiência descrita por Malavolta et al. (1997), que não foram observados no presente estudo, quando se aplicou diferentes doses de SHs em cultivares distintas de soja. Tal comportamento pode estar relacionado ao bom crescimento das plantas (Tabela 2 e 3), uma vez que a taxa de crescimento e nutrição pode ocasionar em diluição dos nutrientes (Ponce et al., 2024).

Rosa et al. (2021) em estudos com diferentes concentrações de carbono em milho, observaram aumento no acúmulo de Mn na concentração de 15 mg L⁻¹, comparativamente ao controle; além disso observaram maior eficiência na translocação do Fe, mesmo com sua eficiência de absorção reduzida. Pesquisas como a de Prado et al. (2016) demonstram menor teor de Mn e Fe em plantas de soja tratadas com fertilizantes enriquecido com SHs, submetidas ao estresse hídrico, porém dentro da faixa de suficiência. O efeito das SH na melhor disponibilização de Fe é atribuído à maior solubilidade do Fe por complexação com as substâncias húmicas, ou ainda, à redução do Fe³⁺ a Fe²⁺ pelos ácidos húmicos, resultando em maior disponibilidade para as plantas (Adani et al., 1998).

Em relação ao Cu, não houve diferenças significativas entre tratamentos e cultivares. Resultados semelhantes foram encontrados em milho (Rosa et al., 2021), soja (Matuszak-Slamani et al., 2022) e tomate (Hartz e Bottoms., 2010). É possível que as SHs tenham promovido a complexação do Cu, resultando em um complexo mais estável que não o disponibiliza para as plantas. Essa complexação pode ter reduzido a disponibilidade de Cu para as plantas ou facilitado perdas por lixiviação dada a baixa CTC do solo cultivado (Lima et al., 2011).

3.4. Produção de biomassa em soja submetida à aplicação de substâncias húmicas

Não houve efeito significativo das substâncias húmicas e cultivares para a massa seca de raiz aos 128 DAS em ambas as cultivares (Tabela 8). Quanto à alocação de massa seca da parte aérea e massa seca total das plantas de soja, houve diferença apenas para a cultivar TMG 2374 IPRO (Tabela 8). Na mesma cultivar, a aplicação de 2,2 g L⁻¹ em R1 resultou em média superior quando comparado aos demais tratamentos. Também houve efeito significativo para cultivares com aplicação de 2,2 e 4,4 g L⁻¹ em R1 e plantio respectivamente, para a massa seca da parte aérea e massa seca total e as médias superiores foram observadas na cultivar TMG 2374 IPRO.

Tabela 8 Matéria seca da raiz - MSR (g), matéria seca da parte aérea - MSPA (g), e matéria seca total - MST (g) de plantas de soja submetidas à aplicação de substâncias húmicas

Tratamentos	MSR		MSPA		MST	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2
Controle	4,42 Aa	4,70 aA	34,28 aA	33,25 abA	38,71 aA	37,95 abA
2,2 g/L + Plantio	4,03 aA	4,50 aA	29,60 aA	33,94 abA	33,63 aA	38,44 abA
2,2 g/L + R1	4,30 aA	6,0 aA	33,84 aB	48,01 aA	38,15 aB	54,01 aA
4,4 g/L+ Plantio	3,63 aA	5,45 aA	26,64 aA	39,21 abA	30,27 aB	44,66 abA
4,4 g/L+ R1	4,12 aA	5,20 aA	35,22 aA	26,07 bA	39,34 aA	31,27 bA
Média	4,10	5,17	31,91	36,09	36,02	41,26
CV%	33,11		30,52		28,89	

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada cultivar, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os resultados observados nesta pesquisa são semelhantes aos encontrados por Lima et al. (2013) que em estudos com aplicação de produto comercial contendo substâncias húmicas na cultura da soja não observaram diferenças quando aplicadas doses combinadas do produto comercial Maxifós e do enraizador ZincoKelp quanto à MSR, MSPA e MST. Também em estudos com SHs extraídas de solos cultivados com diferentes culturas de cobertura e sistemas de plantio, não foram observadas diferenças significativas para MSR em mudas de milho cultivadas em sistema hidropônico (Sá et al., 2023).

Meerza e Ali (2023) em pesquisas com aplicação de ácidos húmicos via solo, verificaram que o ácido húmico aumentou a MSPA quando aplicados 8 g L⁻¹ de ácido húmico, que se assemelham aos resultados observados no presente estudo. Quando aplicados 2,2 g L⁻¹ em R1, a média foi superior para a cultivar TMG 2374 IPRO em comparação ao controle e aos demais tratamentos. Resultados positivos também foram relatados por Catuchi et al. (2016) que aplicaram ácidos húmicos e fúlvicos na cultura da soja no sulco de semeadura e via folha; os autores observaram diferenças significativas para MSPA tanto para as doses via solo, quanto foliar, quando comparado ao controle sem a aplicação de SHs.

3.5. Indicadores de produção

O número de vagens, o número médio de grãos por planta e a massa de 100 grãos não diferiram entre os tratamentos aplicados. Houve efeito significativo apenas para o número de vagens entre as cultivares quando aplicadas as doses de 2,2 g L⁻¹ no plantio e 4,4 g L⁻¹ em R1.

Nesses casos, o número de vagens foi superior na cultivar TMG 2372 IPRO. A massa de 100 grãos também diferiu entre as cultivares para todos os tratamentos aplicados e as médias foram superiores na cultivar TMG 2374 IPRO (Tabela 9).

Tabela 9. Número de vagens - NV, número de grãos por planta – NGP e massa de cem grãos - M100 (g) de plantas de soja submetidas à aplicação de substâncias húmicas

Tratamentos	NV		NGP		M100	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2
Controle	149,15 aA	89,70 aA	339,40 aA	222,75 aA	19,08 aB	22,56 aA
2,2 g/L + Plantio	136,00 aA	95,90 aB	302,30 aA	241,10 aA	18,32 aB	23,16 aA
2,2 g/L + R1	150,50 aA	130,70 aA	346,30 aA	320,20 aA	18,37 aB	23,15 aA
4,4 g/L+ Plantio	131,10 aA	114,50 aA	289,40 aA	284,60 aA	18,85 aB	22,19 aA
4,4 g/L+ R1	167,40 aA	87,80 aB	379,20 aA	226,50 aA	20,78 aB	24,13 aA
Média	146,83	103,72	331,32	259,03	19,08	23,04
CV%	38,79		41,31		7,3	

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada cultivar, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Catuchi *et al.* (2016) em pesquisas com aplicação de ácidos húmicos e fúlvicos na cultura da soja no sulco de semeadura e foliar, observaram diferenças significativas para número de vagens, contudo sem diferenças para a massa de 100 grãos.

Diversos estudos indicam que a aplicação de bioestimulantes pode ou não impactar a produção de vagens em plantas de soja. Rozzati, Borsoi e Mancini (2022) observaram que a aplicação de SHs e extrato de algas via sulco de semeadura não resultou em aumento na produção de vagens e massa de mil grãos. De forma similar, Contin *et al.* (2021) ao avaliarem individualmente diferentes doses de ácido fúlvico na cultura da soja, cultivar TMG 7067 aplicados via folha, não identificaram diferenças estatísticas no número de vagens e massa de 1000 grãos quando comparado ao controle sem aplicação de ácido fúlvico. Além disso, Rosa *et al.* (2020) em trabalho realizado com soja da variedade 5D621-IPRO não observou resposta positiva em relação ao número de vagens e massa de 100 grãos, quando foram aplicados bioestimulantes contendo ácido fúlvico e extrato de algas.

3.6. Morfobiometria de raízes de soja submetidas à aplicação de substâncias húmicas

A área superficial de raiz (ASR), comprimento total de raízes (CTR), diâmetro médio de raiz (DMR) e volume total de raízes (VTR) não diferiram estatisticamente com aplicação

das diferentes doses, exceto o diâmetro médio de raiz, que apresentou resultados significativos na cultivar TMG 2372 IPRO (Tabela 10). O DMR da cultivar TMG 2372 IPRO apresentou resultado significativo quando aplicada a dose de 2,2 g L⁻¹ no plantio, porém sem diferir do controle, e a menor média foi observada na dose de 2,2 g L⁻¹ aplicada em R1. Também houve efeito significativo entre as cultivares para a ASR quando aplicada a dose de 4,4 g L⁻¹ em R1 e para o DMR quando aplicados 4,4 g L⁻¹ no plantio e R1 com médias superiores na cultivar TMG 2374 IPRO. O VTR diferiu estatisticamente para todos os tratamentos aplicados e as maiores médias foram observadas na cultivar TMG 2374 IPRO (Tabela 10).

Tabela 10. Área superficial de raiz – ASR (cm²), comprimento da raiz – CR (cm), diâmetro médio de raiz – DMR (mm), volume total de raiz – VTR (cm³) de plantas de soja em resposta à aplicação de substâncias húmicas

Tratamentos	ASR		CR		DMR		VTR	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2
Controle	754,39 aA	941,91 aA	29,86 aA	37,60 aA	0,28 abA	0,25 aA	13,94 aB	22,91 aA
2,2 g/L + Plantio	824,25 aA	901,28 aA	33,46 aA	40,80 aA	0,29 aA	0,26 aA	13,67 aB	23,15 aA
2,2 g/L + R1	783,81 aA	955,35 aA	30,35 aA	36,27 aA	0,21 bA	0,26 aA	15,28 aB	29,73 aA
4,4 g/L+ Plantio	806,06 aA	932,23 aA	29,91 aA	34,59 aA	0,25 abB	0,30 aA	12,94 aB	26,06 aA
4,4 g/L+ R1	717,66 aB	997,77 aA	33,01 aA	37,86 aA	0,25 abB	0,30 aA	15,65 aB	29,96 aA
Média	777,23	945,71	31,31	37,42	0,26	0,27	14,3	26,36
CV%	23,31		19,04		13,9		29,13	

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada cultivar, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Paiva (2020) avaliou a aplicação de ácido fúlvico e húmico na cultura do milho, em diferentes doses, e observou diferenças significativas para ASR, CR e VTR. Pesquisas realizadas com café não obtiveram resposta positiva em relação ao comprimento de raiz quando aplicados produtos contendo ácido húmico (Bento et al., 2021). De forma similar, Oliveira e Sousa (2016) avaliaram plântulas de milho, utilizando bioestimulante à base de SHs e aminoácidos não observaram maior incremento para superfície radicular e diâmetro de raízes, quando aplicadas quatro diferentes tipos de bioestimulantes. Além disso, Bahjat et al., (2022) avaliaram a aplicação de diferentes doses de ácido húmico na cultura da soja em condições de estresse salino e não observaram aumento no comprimento de raiz, comparativamente ao controle sem a aplicação de ácido húmico.

Os resultados observados para o diâmetro médio de raiz podem estar relacionados ao estímulo da atividade da H⁺-ATPase da membrana plasmática, induzido pela presença de íons de baixa massa molecular, como os ácidos fúlvicos que compõe as substâncias húmicas, que parecem favorecer o desenvolvimento de pelos radiculares e raízes laterais mais finas. Esse efeito contribui para um aumento da área superficial do sistema radicular, ocasionando em aumento da absorção de água e nutrientes pela planta. (Façanha et al., 2002; Canellas e Santos 2005).

Embora não se tenha observado diferenças estatísticas entre algumas variáveis avaliadas, é possível inferir que tais efeitos das substâncias húmicas são de difícil explicação devido à sua natureza complexa e ainda pouco compreendida no contexto agrônômico (Canellas; Santos., 2005). Ainda que as substâncias húmicas apresentem efeitos diretos ou indiretos nas plantas, a resposta das culturas dependerá de diversos fatores, como o ambiente em que estão inseridas, o material de origem fonte das substâncias húmicas, o método de extração, bem como a concentração e a composição (Harz e Bottoms, 2010).

4.0.CONCLUSÕES

A aplicação de substâncias húmicas em plantas de soja não apresentou resultados conclusivos no crescimento, desenvolvimento e composição nutricional das plantas de soja e novos estudos devem ser feitos com doses maiores para confirmação de tais efeitos.

As cultivares TMG 2372 IPRO e TMG 2374 IPRO diferem quanto à aplicação de substâncias húmicas.

REFERÊNCIAS

ADANI, F.; GENEVINI, P.; ZACCHEO, P.; ZOCCHI, G. The effect of commercial humic acid on tomato plant growth and mineral nutrition. **Journal of plant nutrition**, v. 21, n. 3, p. 561-575, 1998.

AKINCI, S.; BÜYÜKKESKIN, T.; EROGLU, ~ A.; ERDOGAN, ~ B.E. The effect of humic acid on nutrient composition in broad bean (*Vicia faba* L.) roots. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 1, n. 1, p. 81-87, 2009.

BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; GONTIJO, J. B.; OLIVEIRA, F. M.; GONÇALVEZ, J. Aclimação de orquídeas (*Cybidium* ap.) em resposta a aplicação de ácidos húmicos. **Ciência Rural**, v. 44, p. 830-833, 2014.

BARBOSA, E. D.; MELO, R. E.; PIMENTA, R. M. B.; OLIVEIRA, L. J.; SILVA, A. E. B. Produção de mudas de meloeiro sob influência de substâncias húmicas derivadas de compostagens no semiárido baiano. **Diversitas Journal**, v. 7, n. 4, p. 2356-2370, 2022.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JUNIOR, W. **AgroEstat - sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos**. Jaboticabal, FCAV/UNESP, 2015. 396p.

BENTO, R. J. F. A.; ZAMBELI, A. S.; FREITAS, A. S.; SOARES, O. M. G.; SILVA, F. E. A. Impacto de ácidos húmicos e fúlvicos na produção de mudas de cafeeiro Impact of humic and fulvic acids on the production of coffee seedlings. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 7, p. 67277-67285, 2021.

BORSOI, A.; ROZATTI, A. L.; MANCINI, C. Características agronômicas e produtividade da soja com utilização de condicionadores de solo e bioestimulantes no sulco da semeadura. **Revista Cultivando o Saber**, p. 1-12, 2022.

CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 1, p. 1-11, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/2196-5641-1-3>.

CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.R. Chemical nature of soil humified fractions and their biactivity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.3, p.233-240, 2004.

CANELLAS, L.P; SANTOS G. A. Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. Campos dos Goytacazes, UENF. 348p. 2005.

CHIODINI, B. M.; DA SILVA, A. G.; NEGREIROS, A. B.; MAGALHÃES, L. B. Matéria orgânica e a sua influência na nutrição de plantas. *Revista Cultivando o Saber*, v. 6, n. 1, p. 181-190, 2013.

CONTIN, R. F.; CLAUDINO, T. M.; ANDRZEJEWSKI, J. H. S.; OLIVEIRA, D. J. F.; BELLETTINI, S. Aplicação via foliar de doses de ácido fúlvico em diferentes estágios de desenvolvimento da cultura da soja. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 14701-14709, 2021.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos: EMBRAPA Solos, 3ª ed. 2013. 353 p.

FERREIRA, L. A.; OLIVEIRA, J. A.; VON PINHO, E. V. R.; QUEIROZ, D. L. Bioestimulante e fertilizante associados ao tratamento de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 80-89, 2007.

FIALHO, E. S.; SANTOS, L. G. F. Unidades Mesoclimáticas de Viçosa-MG, na Zona da Mata Mineira. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 31, p. 230-258, 2022.

FLORES, A.R.; CUNHA, P.P.; MARCHÃO, L.R.; MORAES, F.M. Nutrição e adubação de grandes culturas na região do cerrado. Goiânia. **Gráfica UFG**, 2019. 1ª ed. 620p.

HARTZ, T.; BOTTOMS, T. Humic substances generally ineffective in improving vegetable crop nutrient uptake or productivity. **Hort Science**, v.45, p.906-910, 2010.

JIN, Y.; YUAN, Y.; LIU, Z.; GAI, S.; CHENG, K.; YANG, F. Effect of humic substances on nitrogen cycling in soil-plant ecosystems: Advances, issues, and future perspectives. **Journal of Environmental Management**, v. 351, p. 119738, 2024.

- LIMA, A. A.; ALVARENGA, M. A. R.; RODRIGUES, L.; CARVALHO, J. G. Concentração foliar de nutrientes e produtividade de tomateiro cultivado sob diferentes substratos e doses de ácidos húmicos. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p. 63-69, 2011.
- LIMA, C. P.; CHRIST, E.A.; SANTOS, I. B.; OLIVEIRA, R.; MARTINS, R.; ALMEIDA, R. Crescimento inicial de plantas de soja em função da aplicação de substâncias húmicas e enraizador. In: XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, ed. 34. 2013, p. 1-5. Florianópolis. **Anais do XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**. Florianópolis- SC. Disponível em: <https://www.eventossolos.org.br/cbcs2013/anais/>. Acesso em: 12 de jan. 2025.
- MAIA, C. E.; MORAIS, E. R. C. D.; PORTO FILHO, F. D. Q.; GUEYI, H. R.; MEDEIROS, J. F. D. Teores foliares de nutrientes em meloeiro irrigado com águas de diferentes salinidades. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. suppl 1, p. 292-295, 2005.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações. 2.ed. Piracicaba, SP: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 308p.
- MARSCHNER, P (Ed.). Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic press, 2012. 651 p.
- MATUSZAK-SLAMANI, R.; BEJGER, R.; WŁODARCZYK, M.; KULPA, D.; SIENKIEWICZ, M.; GOŁĘBIEWSKA, D.; UKALSKA-JARUGA, A. Effect of humic acids on soybean seedling growth under polyethylene-glycol-6000-induced drought stress. **Agronomy**, v. 12, n. 5, p. 1109, 2022.
- MEERZA, C. H. N.; ALI, S. S. Morphological growth of soybean (*Glycine max* L.) treated with soil application of humic acid under different cultivation periods. **Agricultural Science**, v. 6, n. 2, p. 136-145, 2023.
- NOVAIS, R.F. Soja. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ, V. H. (Eds). **Recomendações 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. 43-61.
- OLIVEIRA, N. T.; SOUSA, S. M. **Avaliação de plântulas de milho sob ação de bioestimulantes à base de substâncias húmicas e aminoácidos**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 31., 2016, Bento Gonçalves. Milho e sorgo: inovações, mercados e segurança alimentar: anais. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2016.
- PAIVA, M. J. D. A. **Ação e modo de aplicação dos ácidos húmicos e fúlvicos sobre características morfológicas e fisiológicas de milho**. 2020. 47 p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.
- PONCE, M. C. R.; LANA, R. M. Q.; CAMARGO, R.; FRANCO, M. H. R.; FRANÇA, A. C.; GONTIJO, L. N.; SILVEIRA, R. A. R. M.; CAMARGOS, S. B. (2024). Sources and doses of biofertilizers in soybean and corn crops. **Contribuciones a las ciencias sociales**, 17(10), e11697. <https://doi.org/10.55905/revconv.17n.10-222>.

- PRADO, M. R.; WEBER, O. L. D. S.; MORAES, M. F.; SANTOS, C. L. D.; TUNES, M. S. Liquid organomineral fertilizer containing humic substances on soybean grown under water stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 5, p. 408-414, 2016.
- PRADO, R. M. **Nutrição de plantas**. 1. ed. São Paulo: Ed. UNESP, 2008.407 p.
- ROSA, C. M. D.; CASTILHOS, R. M. V.; VAHL, L. C.; CASTILHOS, D. D.; PINTO, L. F. S.; OLIVEIRA, E. S.; LEAL, O. D. A. Efeito de substâncias húmicas na cinética de absorção de potássio, crescimento de plantas e concentração de nutrientes em *Phaseolus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 959-967, 2009.
- ROSA, S. D.; SILVA, C. A.; CARLETTI, P.; SAWAYA, A. C. H. F. Maize growth and root organic acid exudation in response to water extract of compost application. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 21, n. 4, p. 2770-2780, 2021.
- ROSA, R. V.; SANTOS, A. L. F.; SILVA, A. A.; SAB, M. P. V.; GERMINO, G. H.; CARDOSO, F. B.; SILVA, M.A. Increased soybean tolerance to water deficiency through biostimulant based on fulvic acids and *Ascophyllum nodosum* (L.) seaweed extract. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, p. 228-243, 2021.
- SÁ, M. C.; CAMPOS, A. R. M.; EVARISTO, A. B.; SILVA, R. S.; DOBBS, L. B. Quality and Bioactivity of Humic Substances from Soils Grown with Cover Crops. **Eurasian Soil Science**, v. 56, n. 10, p. 1420-1431, 2023.
- SANTOS, F. T. D. **Parâmetros químicos e qualidade de salsa em função de substratos orgânicos associados ao biochar**. 2020. 104 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2020.
- SILVA, A. M. S. R.; SANTOS, B. M. S.; CHÁVEZ, D. W. H.; OLIVEIRA, R.; SANTOS, C. H. B.; OLIVEIRA, E. C.; RIGOBELLO, E. C. K-humate as an agricultural alternative to increase nodulation of soybeans inoculated with *Bradyrhizobium*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 36, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbac.2021.102129>.
- SILVA, C. A. Matéria orgânica e a fertilidade do solo. In: Substâncias húmicas: modo de ação e uso na agricultura. In: BETTIOL, W.; SILVA, C. A.; CERRI, C. E. P.; MARTINNETO, L.; ANDRADE, C. A. **Matéria orgânica do solo: ciclo, compartimentos e funções. Entendendo a matéria orgânica do solo em ambientes tropical e subtropical**. editores técnicos. – Brasília, DF: Embrapa, 788 p. 2023.
- SILVA, C. A.; MORAIS, E.G. Fertilizantes organominerais. In: Substâncias húmicas: modo de ação e uso na agricultura. In: BETTIOL, W.; SILVA, C. A.; CERRI, C. E. P.; MARTINNETO, L.; ANDRADE, C. A. **Matéria orgânica do solo: ciclo, compartimentos e funções. Entendendo a matéria orgânica do solo em ambientes tropical e subtropical**. editores técnicos. – Brasília, DF: Embrapa, 788 p. 2023.
- SILVA, E. M. B.; FERNANDES, G. B.; ALVES, R. D. S.; CASTAÑON, T. H. F. M.; SILVA, T. J. A. Adubação mineral, orgânica e organomineral na cultura do rabanete. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 23300-23318, 2020.
- SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. Cerrado: Correção do solo e adubação. 2.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 416p.

USDA - United States Department of Agriculture. **Foreign agricultural service 2024**. Disponível em: <https://fas.usda.gov/data/production/commodity/2222000>. Acesso em: 29 nov. 2024

VISSER, S.A.; CHRISTMAN, R.F.; GJESSING, E.T. Aquatic and terrestrial humic materials, **Ann Arbor Science**, 183p. 1983.

ZUFFO, A. M.; RATKE, R. F.; STEINER, F.; AGUILERA, J. G. Características agronômicas de cultivares de soja com aplicação tardia de nitrogênio em suplementação à inoculação de *Bradyrhizobium* spp. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 46, p. e022521, 2022.

CAPÍTULO 2

EFEITO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS NOS PARÂMETROS DE FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA, SUPERÓXIDO DISMUTASE E TEOR DE PROTEÍNA EM PLANTAS DE SOJA

1.0. INTRODUÇÃO

As SHs têm mostrado uma série de efeitos diretos e indiretos no crescimento e desenvolvimento de plantas (Arancon et al., 2006). Os principais efeitos estão relacionados às modificações causadas por tais substâncias em rotas e processos do metabolismo das plantas por meio das interações estabelecidas com os diferentes tecidos. Assim, vários efeitos no crescimento e desenvolvimento das plantas estão relacionados às alterações na morfologia, fisiologia e bioquímica (Trevisan et al., 2010; Canellas; Olivares., 2014).

Embora haja discussões a respeito do efeito bioestimulante das SHs, acredita-se que um dos efeitos diretos no metabolismo das plantas esteja relacionado ao estímulo da atividade e promoção da síntese de H^+ -ATPases das membranas de células de raiz (Zandonadi et al., 2007), semelhante ao mecanismo de ação dos fitohormônios da classe das auxinas. As H^+ -ATPases são capazes de hidrolisar ATP, gerar energia e criar um gradiente de potencial eletroquímico que está relacionado à energização de sistemas secundários de translocação de íons fundamentais para a absorção de macro e micronutrientes; também as SHs causam aumento da plasticidade da parede celular, por acidificação para possibilitar o processo de crescimento e divisão da célula vegetal (Rodda et al., 2006a).

As membranas biológicas, em contato com uma solução de ácidos húmicos teriam sua permeabilidade aumentada e, conseqüentemente, a entrada de íons e a nutrição celular seriam facilitadas (Visser, 1985). Esse aumento de permeabilidade da membrana também é atribuído à atividade auxínica de algumas SHs de baixa massa molecular nas H^+ -ATPases. O estímulo à atividade da H^+ -ATPase de membrana plasmática pela presença de SHs parece favorecer a emissão de pelos radiculares e raízes laterais finas e aumentar a área superficial do sistema radicular (Façanha et al., 2002; Canellas; Santos, 2005) o que certamente favorece a absorção da maioria dos nutrientes minerais.

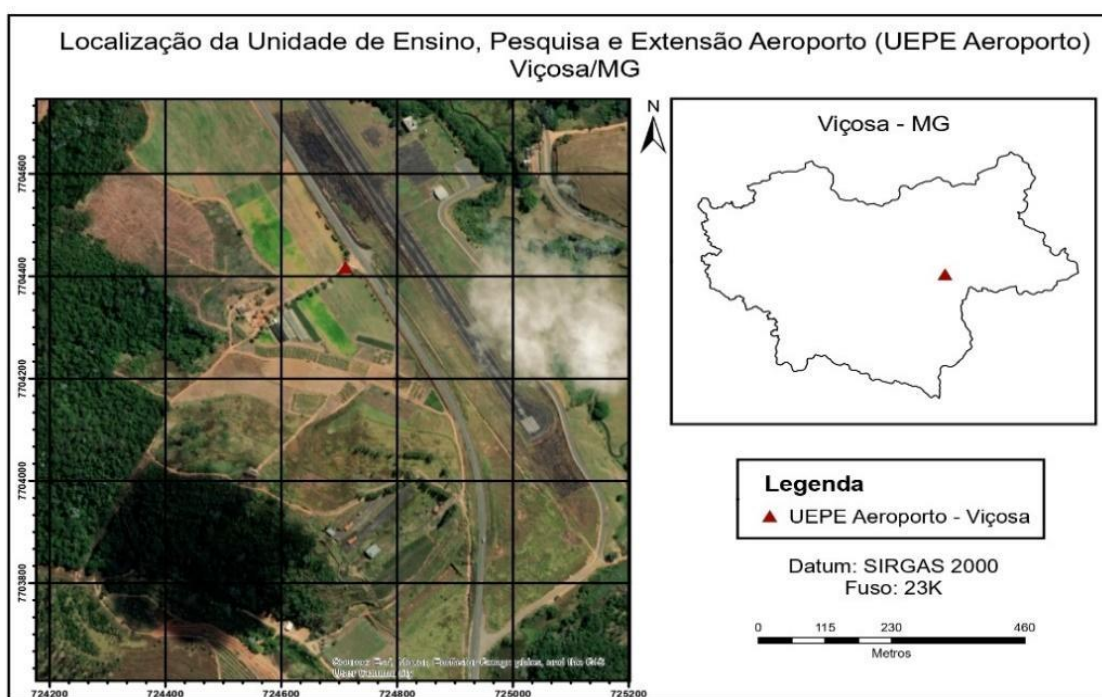
Assim, objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de substâncias húmicas na fluorescência da clorofila, atividade da superóxido dismutase e teor de proteína nas folhas de duas cultivares de soja.

2.0. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Caracterização do local do estudo

A pesquisa foi realizada, entre janeiro e abril de 2024, por meio de um experimento conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa, pertencente ao Departamento de Agronomia, na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão – UEPE – Aeroporto, no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, localizada na Microrregião da Zona da Mata ($1^{\circ}44'5.87''S$ e $47^{\circ}3'28.38''O$) (Figura 1). O clima da região é do tipo Cwa (subtropical de inverno seco), segundo classificação de Köppen-Geiger e altitude de 675 m.

Figura 1. Mapa de localização da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão (UEPE- Aeroporto).



Fonte: Autor (2025).

As plantas de soja foram cultivadas em vasos de 35 L contendo solo classificado como Latossolo Vermelho Amarelo (Embrapa., 2013). Para a caracterização do solo da área experimental, foram coletadas amostras simples de solo, na camada de (0-20 cm), para compor uma amostra composta, a qual foi enviada a um laboratório privado para avaliação química (Tabela 1).

Tabela 1- Caracterização química do solo (0 - 20 cm) utilizada no cultivo da soja

	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	
Solo	(água)							
		mg/dm ³		cmol _c /dm ³				
0-20	6,0	5,7	40	2,23	0,62	0	2,97	
V	SB	t	T	M.O	Fe	Mn	Cu	Zn
%	cmol _c /dm ³			dag/kg	mg/dm ³			
49,8	2,95	2,95	5,92	2,7	35,9	25,8	0,9	0,9

pH em água, KCl e CaCl₂ - Relação 1:2,5; P - Na - K - Fe - Zn - Mn - Cu - Extrator Mehlich-1; Ca - Mg - Al - Extrator: KCl - 1 mol/L; H + Al - Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol/L - pH 7,0; B - Extrator água quente; S - Extrator - Fosfato monocálcico em ácido acético; CTC (t) - Capacidade de Troca Catiônica Efetiva; CTC (T) - Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0; V = Índice de Saturação de Bases; m = Índice de Saturação de Alumínio; Matéria Orgânica (MO) = C.Org x 1,724 - Walkley-Black.

2.2. Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi conduzido em esquema fatorial (2x4) + 2 (cultivares e combinação de doses e época de aplicação), mais 2 tratamentos controle sem aplicação de substâncias húmicas, sob delineamento inteiramente ao acaso com 5 repetições, totalizando 50 unidades experimentais. Os tratamentos consistiram na aplicação de solução contendo substâncias húmicas, nas cultivares TMG 2372 IPRO[®] denominada de cultivar 1 (C1) e TMG 2374 IPRO[®] denominada de cultivar 2 (C2), contendo doses de produto comercial que garantia 2,2 g e 4,4 g de carbono (C) orgânico L⁻¹ de calda, por ocasião da semeadura e em R1 (início da floração).

2.3. Tratos culturais, material vegetal, irrigação e condução do experimento

As adubações nitrogenada, fosfatada e potássica foram realizadas de acordo com a produtividade esperada para as cultivares e análise de solo (Tabela 1), e as recomendações para o cultivo da soja (Ribeiro et al., 1999), o tratamento controle recebeu, a mesma concentração de N, P e K. Para todos os tratamentos, no plantio foi realizada a adubação nitrogenada (150 kg ha⁻¹ de N), via sulfato de amônio (20% de N e 22% de S) e adubação fosfatada (120 kg ha⁻¹ de P₂O₅) via superfosfato triplo (46 % de P₂O₅). Também, em todos os tratamentos, foi feita a adubação mineral potássica (120 kg ha⁻¹ de K₂O) via cloreto de potássio (58 % de K₂O), dividindo-se as doses em duas quantidades iguais. A primeira aplicação de K foi realizada no plantio, juntamente com a adubação fosfatada, e a segunda aos 21 dias após a semeadura (DAS), mesma ocasião da aplicação do N mineral. Todos os fertilizantes minerais foram aplicados a uma profundidade aproximada de 5 cm da superfície do solo.

Foram utilizadas sementes das cultivares TMG 2372 IPRO[®] e TMG 2374 IPRO[®], no qual foi feita a semeadura de 4 sementes por vaso e aos 17 dias após a emergência foi feito o desbaste. Durante a semeadura até o estágio vegetativo V3, o experimento foi irrigado através de sistema de aspersão com um timer acoplado com programação para irrigações diárias de 30 min, após o estágio V3 a irrigação foi desligada a fim de evitar problemas com ataque de doenças nas plantas e cada vaso teve sua capacidade de campo mantida durante o cultivo

Para o controle de pragas, como ácaro-rajado (*Tretanychus urticae*) e ácaro-branco (*Polyphagotarsonemus latus*) foi feita a aplicação do inseticida Abamectin prentiss[®] aos 69 e 82 DAS. Já para o controle da vaquinha (*Cerotoma arcuata tingomariana*) foi aplicado o inseticida Connect[®], aos 30 DAS, e como preventivo foi aplicado o fungicida Amistar Top[®], aos 82 DAS, para prevenir ataques de fungos causadores da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) e antracnose (*Colletotrichum truncatum*). Todos os inseticidas e fungicidas foram aplicados com auxílio de bombas elétricas costal com capacidade de 20 L.

A aplicação de SHs foi realizada em duas épocas: na semeadura, e em R1 início do florescimento, o qual ocorreu aos 44 DAS. Foram aplicadas doses de produto comercial que garantia 2,2 e 4,4g de carbono (C) orgânico/L de calda, e aplicadas com auxílio de bomba borrifadora automática com capacidade de 1,5 L, sendo que cada dose foi preparada em bomba única para cada tratamento. Cada bomba foi preenchida com 500 mL de água deionizada, sendo diluído 2,2 e 4,4g de SHs para cada litro de água. A aplicação das SHs ocorreu no período da manhã, isolando-se cada vaso em suas extremidades para evitar deriva para outros tratamentos.

2.4. Avaliação da fluorescência da clorofila

A fluorescência da clorofila foi medida utilizando o dispositivo Junior PAM[®], operado com o software WinControl-3. Para isso, amostras de folhas índices de cada tratamento foram avaliados no período noturno entre 22 h e 2 h, a fim de garantir a adaptação ao escuro pelas folhas. Inicialmente, capturaram-se imagens do rendimento mínimo de fluorescência da clorofila (F_0) em estado adaptado ao escuro, utilizando pulsos de luz de baixa intensidade (1 Hz). Posteriormente, determinou-se a fluorescência máxima (F_m) com a aplicação de um pulso de luz saturante azul (10 Hz). Com base nesses dados, foi calculado o rendimento quântico máximo da fase fotoquímica do fotossistema II (PSII), expresso pela razão F_v'/F_m' , extinção fotoquímica (qP), taxa de transporte de elétrons (ETR), quenching não-fotoquímico [$Y(NPQ)$] e o rendimento quântico efetivo (YII). Para isso, as folhas foram submetidas a condições de luz

actínica constante ($1500 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$) por 35 segundos, alternando entre períodos de luz e escuro.

2.5. Avaliações bioquímicas

Os extratos enzimáticos para dosagem de atividade da superóxido dismutase - SOD foram obtidos por meio da maceração de amostras (0,2 g) em almofariz com N_2 líquido, contendo polivinilpolipirrolidona 5% (PVPP), homogeneizado em 1,5 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,8, contendo 0,1 mM de EDTA e 20 mM de ácido ascórbico. Após centrifugação a $12.000 \times g$ por 20 min a 4°C , o sobrenadante foi coletado para mensurar a atividade enzimática. A atividade da SOD foi determinada conforme descrito por Giannopolitis e Ries, (1977), em que, 100 μL do extrato protéico foi transferido para tubos protegidos da luz contendo 1660 μL de tampão de ensaio contendo fosfato de potássio [50 mM, pH 7,8], metionina [13 mM] e EDTA [1 mM], 200 μL de Azul de nitrotetrazólio (NBT, 1 mM). A reação se iniciou pela adição de 40 μL de riboflavina [1 mM] e a exposição rápida a luz, por meio do acondicionamento em caixa de madeira com lâmpada [30 watts, 30 μmol de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$], por 7 minutos, paralisando a reação ao desligar a luz, protegendo os tubos com papel laminado até a leitura em 540 nm. A atividade enzimática foi estimada pela capacidade de redução do NBT, equivalente uma unidade de SOD a inibição de 50% da taxa de fotorredução do NBT, expresso em U. A. g^{-1} proteína min^{-1} .

O conteúdo de proteínas solúveis da massa fresca (MF) foi determinado com base no método descrito por Bradford (1976), através de uma curva padrão previamente elaborada, com concentrações crescentes de BSA (albumina de soro bovino) e determinada em mg proteína g^{-1} MF. A extração foi realizada pesando-se 0,2 g de MF do tecido vegetal, em seguida maceradas e solubilizadas com 2 mL de tampão de extração contendo Tris-HCl [100 mM; pH 7,8], 0,1 mM de EDTA e 20 mM de ácido ascórbico. O extrato foi inserido em microtubos eppendorf, identificados e centrifugados [10.000 g por 15 minutos]. Para as leituras em espectrofotômetro em 595 nm, alíquotas de 100 μL da amostra foram misturadas a 1 mL de solução de Bradford, em tubos de ensaio, homogeneizado em agitador vórtex, e após 15 minutos as leituras foram realizadas.

2.6. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Todos os procedimentos

estatísticos foram realizados no software Agroestat[®] (BARBOSA; M. MALDONADO JUNIOR, 2015); as tabelas foram geradas com auxílio do Software Microsoft Excel versão 2016 e os gráficos gerados com o auxílio do programa computacional Sigma Plot[®] v. 10.0

3.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Fluorescência da clorofila a

Aos 67 DAS, o rendimento quântico efetivo Y (II), a taxa de transporte de elétrons no fotossistema (ETR) e a fluorescência quântica máxima do FSII (Fv'/Fm'), não apresentaram diferenças significativas em relação às doses de SHs aplicadas na cultivar TMG 2372 IPRO (Tabela 2), no entanto para os coeficientes de dissipação fotoquímica (qP) e de dissipação não fotoquímica (NPQ) houve diferença significativa quando aplicadas as doses de SHs. Para a TMG 2372 IPRO, a dose de $2,2 \text{ g L}^{-1}$, no plantio, apresentou média superior para qP, enquanto a aplicação de $4,4 \text{ g L}^{-1}$, no plantio, apresentou menor média, comparado ao controle. Quanto ao NPQ, o tratamento controle apresentou média superior com as diferentes doses, e a aplicação de $4,4 \text{ g L}^{-1}$ proporcionou menor média dentre os tratamentos. Já para a TMG 2374 IPRO, houve efeito significativo para ETR, qP e NPQ, e a aplicação de $4,4 \text{ g L}^{-1}$, no plantio, proporcionou maior média para ETR e qP, e a dose de $2,2 \text{ g L}^{-1}$, no plantio, apresentou média superior para NPQ, porém não diferiu do tratamento controle (Tabela 2).

Tabela 2- Rendimento quântico efetivo Y (II), taxa de transporte de elétrons – ETR, coeficiente de dissipação fotoquímica - qP, coeficiente de dissipação não fotoquímica – NPQ, fluorescência máxima efetiva – Fv'/Fm' aos 67 dias após a semeadura de plantas de soja submetidas à aplicação de substâncias húmicas

Tratamentos	Y (II)		ETR		qP		NPQ		Fv'/Fm'	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2
Controle	0,16 aA	0,16 abA	102,36 aA	106,05 abA	0,26 abB	0,25 abA	2,28 aA	1,80 abB	0,84 aA	0,83 aA
2,2 g/L + Plantio	0,21 aA	0,17 abA	136,90 aA	111,53 abA	0,33 aB	0,28 abA	1,99 abA	2,14 aA	0,84 aA	0,84 aA
2,2 g/L + R1	0,19 aA	0,18 abA	121,20 aA	118,66 abB	0,29 abA	0,29 abA	1,92 abA	2,02 abB	0,85 aA	0,84 aA
4,4 g/L+ Plantio	0,15 aB	0,21 aA	99,13 aB	137,30 aA	0,23 bB	0,34 aA	1,57 bB	2,09 abA	0,84 aA	0,84 aA
4,4 g/L+ R1	0,19 aA	0,14 bB	123,70 aA	91,56 bB	0,30 abA	0,21 bB	1,92 abA	1,51 bA	0,84 aA	0,83 aA
Média	0,18	0,17	116,66	7,41	0,28	0,27	1,94	1,91	0,84	0,84
CV%	13,94		13,93		13,65		12,69		0,75	

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada cultivar, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A ausência de resposta significativa das plantas de soja quanto à dissipação fotoquímica e não fotoquímica sugere que há proteção contra a luz exercida pelo NADPH, presente nas membranas dos tilacoides dos cloroplastos (Bennoun, 2005). Os valores observados de qP nos tratamentos com substâncias húmicas indicam um maior direcionamento da energia luminosa para a atividade fotoquímica resultando em uma maior eficiência no mecanismo de proteção da planta (Rosa *et al.*, 2021). Embora não se tenha observado diferenças quanto ao Y(II) e ETR na cultivar TMG 2372 IPRO e para F_v'/F_m' para ambas as cultivares, o presente estudo revela a importância da aplicação de SHs pelos efeitos protetores importantes contra os impactos negativos ocasionados por estresses bióticos ou abióticos.

Em estudos com aplicação foliar de micronutrientes e ácidos húmicos na cultura da soja, Latifinia e Eisvand (2022) observaram que a (F_v'/F_m') no tratamento com ácidos húmicos isolado foi baixa (0,67), semelhante ao controle, sugerindo que o ácido húmico sozinho não conseguiu melhorar significativamente a fotossíntese. Por outro lado, pesquisas com bioestimulante à base de extrato de algas em *Arabidopsis* tratadas com bioestimulante apresentaram redução no rendimento quântico efetivo Y (II), em comparação às plantas que não receberam tal tratamento, além disso, foram capazes de manter o potencial da eficiência fotoquímica do PII (F_v'/F_m') próximo do valor ótimo, em relação às plantas que não receberam o bioestimulante que apresentaram valor abaixo de 0,8, além de um aumento expressivo da NPQ (Santaniello *et al.*, 2017). Valores elevados de NPQ indicam a preservação da eficiência fotoquímica e da capacidade fotossintética das plantas, mesmo sob condições de estresse (Klughammer; Schreiber, 2008). Embora no atual estudo não se tenha observado diferenças, as plantas não apresentaram estresse (Tabela 2), uma vez que valores menores que 0,8 é um indicativo de que possa estar ocorrendo algum estresse biótico ou abiótico.

Ozfidan-Konakci *et al.* (2018) avaliaram o efeito de ácidos húmicos em concentrações de 750 mg L⁻¹ e 1500 mg L⁻¹, combinados ou não com estresse por cádmio (Cd) em concentrações de 100 µM e 200 µM em mudas de trigo. Os autores observaram redução significativa na F_v'/F_m' indicando danos no aparato fotossintético. No entanto, a aplicação de ácidos húmicos inibiu essa redução e protegeu o PSII. Já em relação ao rendimento quântico efetivo do PSII, os autores observaram que o Cd reduziu significativamente o Y(II) em plantas sem tratamento com ácidos húmicos, porém com a aplicação de ácidos húmicos, houve inibição da queda do Y(II) induzida pelo estresse.

Quanto ao qP e NPQ, os mesmos autores observaram que sem ácidos húmicos, o estresse por Cd reduziu o qP, e com a aplicação de ácidos húmicos mitigou essa redução, exceto em

altas concentrações de ácidos húmicos (1500 mg L^{-1}), enquanto o estresse por Cd aumentou o NPQ, e com a adição de ácidos húmicos diminuiu esses valores, principalmente em concentrações de 750 mg L^{-1} .

3.2 Análises de Proteína e SOD

Houve diferença significativa quanto às doses na atividade da SOD e proteínas aos 75 dias após semeadura (DAS).

Tabela 3. Resumo da análise de variância da atividade da SOD e teor de proteína em folhas de soja submetidas à aplicação de substâncias húmicas aos 75 dias após semeadura

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios	
		75 dias após semeadura	
		SOD	Proteína
Doses SH's	4	1833,0184**	91211, 6912**
Cultivares	1	80,5160 ^{ns}	5778,1357 ^{ns}
Interação Doses x Cultivares	4	348,9305 ^{ns}	5067,0456 ^{ns}
Resíduo	40	249,3870 ^{ns}	6457,0914 ^{ns}
CV %		32,10	22,57

GL: Graus de liberdade; CV: Coeficiente de variação; ns: não significativo; *, **: F significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

As diferentes doses de SHs influenciaram significativamente a atividade da SOD. Aos 75 dias após a semeadura, observou-se que a cultivar TMG 2372 IPRO, com aplicação de $4,4 \text{ g L}^{-1}$ de SH no plantio, contribuiu com maior atividade de SOD ($56,44 \text{ U.A g proteína}^{-1}$), comparativamente ao controle, porém não diferiu do tratamento com aplicação de $2,2 \text{ g L}^{-1}$ no plantio e em R1, e de $4,4 \text{ g L}^{-1}$ em R1 (Figura 1). Em relação a cultivar TMG 2374 IPRO, com aplicação de $2,2 \text{ g L}^{-1}$ no plantio, verificou-se que houve maior incremento na atividade da SOD ($76,09 \text{ U.A g proteína}^{-1}$), porém não diferiu das doses de $2,2$ e $4,4 \text{ g L}^{-1}$ em R1 e no plantio, respectivamente, quando comparado ao tratamento controle (Figura 1).

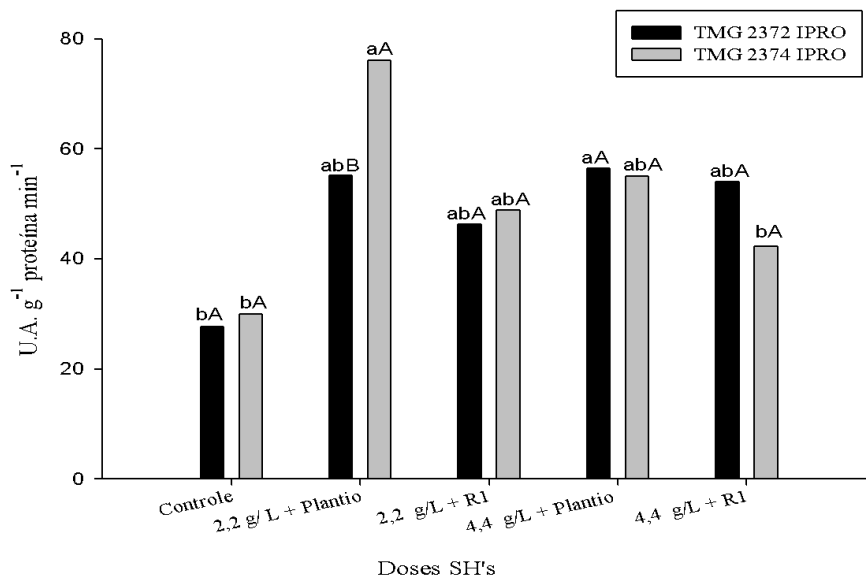


Figura 1- Atividade enzimática da superóxido dismutase em U.A g⁻¹ proteína min⁻¹. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada cultivar, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Esses resultados se assemelham aos obtidos por Rosa *et al.* (2021), que evidenciaram resultados positivos para atividade a da SOD na cultura da soja, quando aplicaram bioestimulante à base de ácidos fúlvicos e extrato de algas; os autores constataram que todos os tratamentos que receberam bioestimulante diferiram significativamente em relação aos dois controles. Tais resultados corroboram com os do atual estudo, em que os tratamentos que receberam SHs apresentaram maior atividade da SOD, quando comparados ao tratamento controle de ambas as cultivares, contribuindo para o fortalecimento do sistema de defesa antioxidante da soja (Cataneo *et al.* 2005).

Segundo Campos (2020), esses resultados se distinguem dos obtidos em sua pesquisa com SHs em soja, no qual a atividade enzimática da SOD foi maior em tratamentos que não receberam SHs e pelas plantas submetidas ao estresse hídrico, ou seja, tais resultados evidenciam o potencial das SHs como uma alternativa eficiente na detoxificação das espécies reativas de oxigênio (EROs), pois a SOD é a primeira enzima a atuar no sistema antioxidativo, atenuando o efeito do radical superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). No entanto, as plantas possuem um sistema antioxidante, incluindo enzimas como a superóxido dismutase, catalase e a peroxidase, que controlam os níveis de EROs e evitam danos celulares (Ozfidan-Konakci *et al.*, 2018).

Em contraste a este estudo e em resposta à aplicação de ácidos húmicos, a atividade da SOD não aumentou em folhas de arroz (Ozfidan-Konakci *et al.*, 2018). Por outro lado, Souza

et al. (2023) mostraram um aumento maior da atividade da SOD em folhas de girassol tratadas com *Salvinia auriculata* à 50 mM de NaCl, porém ao avaliarem a atividade enzimática da SOD nas raízes, os autores não observaram diferenças entre os diferentes tratamentos. Tais resultados corroboram com os encontrados no presente estudo em que as doses de 2,2 g L⁻¹ no plantio e 2,2 e 4,4 g L⁻¹ em R1 da cultivar TMG 2372 IPRO não diferiram do tratamento controle, e para TMG 2374 IPRO, especialmente nas doses de 2,2 e 4,4 g L⁻¹ em R1 e 4,4 g L⁻¹ no plantio, que pode ser justificado pelo fato da SOD atuar na defesa antioxidante das plantas, metabolizando as EROs e catalisando a conversão do O₂⁻ em H₂O₂, estimulando assim a atuação das principais enzimas antioxidantes (Vancini et al., 2005).

Os resultados de Vasconcelos et al. (2009) também sugerem que as SHs aumentam a atividade da SOD em plantas de soja e milho cultivadas com diferentes bioestimulantes à base de ácidos fúlvicos e/ou húmicos. Ao aplicarem o bioestimulante BIO2, aos 42 e 60 dias após a semeadura, observaram aumentos significativos na atividade da SOD em milho e soja, aos 42 DAS, especialmente na dose de 1 L ha⁻¹ em ambas as condições de umidade; aos 60 DAS os efeitos foram menos evidentes, com pequenas diferenças nos tratamentos em relação ao controle. Tais resultados sugerem que o bioestimulante pode ter estimulado o sistema antioxidante, especialmente sob condições de estresse hídrico, indicando que o efeito do bioestimulante pode ser temporário ou dependente de um estresse severo, além da fase de desenvolvimento da planta.

A aplicação de 2,2 g L⁻¹ de SHs, no plantio, não apresentou diferenças em relação ao controle, já a dose de 4,4 g L⁻¹ no plantio e R1 (399,3 e 407,9 mg/g de MF) respectivamente, resultou em maior teor de proteína nas folhas da cultivar TMG 2372 IPRO. A aplicação de 2,2 g L⁻¹ em R1 proporcionou maior teor de proteínas (409,99 mg/g de MF), comparado ao tratamento controle (182,24 mg/g de MF), que não recebeu SH (Figura 2). No que se refere a quantidade de proteínas na cultivar TMG 2374 IPRO, houve diferenças significativas para todos os tratamentos com SHs, em relação ao controle, no qual as diferentes doses apresentaram médias superiores, independente da dose e época de aplicação e o maior teor de proteína foi observado na dose de 2,2 g L⁻¹ em R1 (464,13 mg/g de MF), comparado ao controle e aos demais tratamentos com SHs (Figura 2).

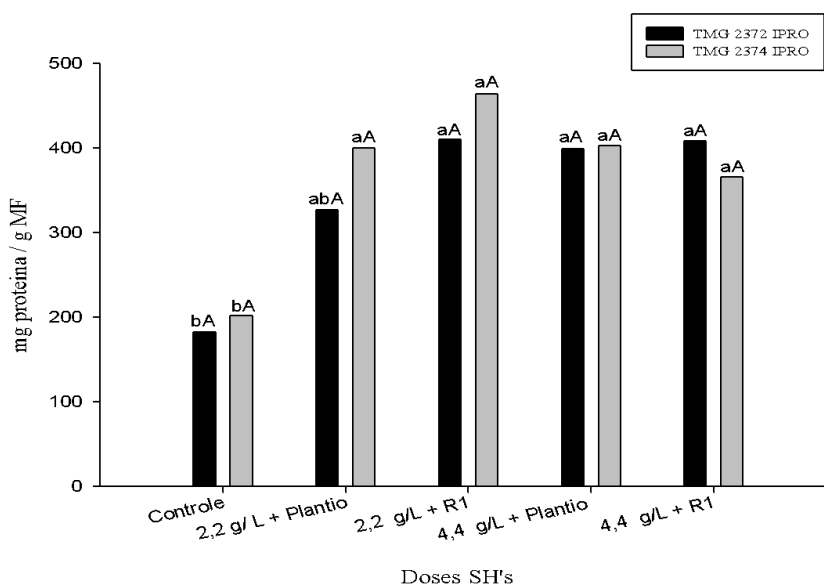


Figura 2- Teor de proteína (mg/g de MF) de folhas de soja submetidas à aplicação de substâncias húmicas. As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada cultivar, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Resultados semelhantes aos do presente estudo foram observados por Bowden *et al.* (2010) em pesquisas com carbono no solo e resposta fisiológica do milho e soja resultaram em teores de proteína foliar no milho significativamente maiores nos tratamentos que supriram a necessidade de N, como o fertilizante inorgânico, compostagem de biossólidos, compostagem de resíduos de cama de aves e cama de aves. Esses tratamentos promoveram um aumento médio de 110% nos teores de proteína em comparação ao controle sem adubação. Esse incremento reflete a importância do N para a síntese de proteínas, destacando seu papel central no metabolismo e desenvolvimento das plantas.

Os resultados do presente estudo (Figura 2) corrobora com os encontrados por Bettoni *et al.* (2014), em que avaliaram o efeito de substâncias húmicas, inoculação micorrízica (+M) e aumento da concentração de CO₂ (ECO₂) em mudas de cebola. Os autores observaram que a combinação de SH, +M e ECO₂ promoveu um maior acúmulo de proteínas solúveis nas folhas, atingindo 18,72 mg g⁻¹ de MS. Em contraste, os menores teores (10,64 mg g⁻¹ de MS) foram registrados em plantas sob condições de CO₂ ambiente, sem SH e sem +M.

4.0. CONCLUSÃO

As substâncias húmicas, independente da dose, promoveram maior atividade da SOD.

As substâncias húmicas na dose de 4,4 g L⁻¹ aplicada no plantio ou em R1 podem aumentar os teores de proteínas em plantas de soja.

REFERÊNCIAS

- ARANCON, N. Q.; EDWARDS, C. A.; LEE, S.; BYRNE, R. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. **European journal of soil biology**, v. 42, p. S65-S69, 2006.
- BARBOSA, J. C.; MALDONADO JUNIOR, W. **AgroEstat - sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos**. Jaboticabal, FCAV/UNESP, 2015. 396p.
- BENNOUN, P. The present model for chlororespiration. **Discoveries in Photosynthesis**, p. 905-909, 2005.
- BETTONI, M. M.; MOGOR, Á. F.; PAULETTI, V.; GOICOECHEA, N. Growth and metabolism of onion seedlings as affected by the application of humic substances, mycorrhizal inoculation and elevated CO₂. **Scientia Horticulturae**, v. 180, p. 227-235, 2014.
- BOWDEN, C. L.; EVANYLO, G. K.; ZHANG, X.; ERVIN, E. H.; SEILER, J. R. Soil carbon and physiological responses of corn and soybean to organic amendments. **Compost Science & Utilization**, v. 18, n. 3, p. 162-173, 2010.
- 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, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- CAMPOS, A. R. M. Influência das substâncias húmicas e diferentes disponibilidades de água no solo em soja. Diamantina, 64 p. jul. 2020. Dissertação (mestrado)– Universidade Federal dos vales Jequitinhonha e Mucuri.
- CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 1, p. 1-11, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/2196-5641-1-3>.
- CANELLAS, L.P; SANTOS G. A. Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. Campos dos Goytacazes, UENF. 348p. 2005.
- CATANEO, A.C.; CHAMMA, K.L.; FERREIRA, L.C.; DÉSTRO, G.F.G.; CARVALHO, J.C.; DEBORA, C.F.S. Atividade de superóxido dismutase em plantas de soja (*Glycine max* L.) cultivadas sob estresse oxidativo causado por herbicida. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 4, n. 2, p. 23-31, 2005.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**: EMBRAPA Solos, 3ª ed. 2013. 353 p.
- FAÇANHA, A. R.; FAÇANHA, A. L. O.; OLIVARES, F. L.; GURIDI, F.; SANTOS, G. D. A.; VELLOSO, A. C. X.; CANELLAS, L. P. Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 1301-1310, 2002.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

KLUGHAMMER, C.; SCHREIBER, U. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. **PAM application notes**, v. 1, n. 2, p. 201-247, 2008.

LATIFINIA, E.; EISVAND, H. R. Soybean physiological properties and grain quality responses to nutrients, and predicting nutrient deficiency using chlorophyll fluorescence. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 22, n. 2, p. 1942-1954, 2022.

NOVAIS, R.F. Soja. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ, V. H. (Eds). **Recomendações 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. 43-61.

OZFIDAN-KONAKCI, C.; YILDIZTUGAY, E.; BAHTIYAR, M.; KUCUKODUK, M. The humic acid-induced changes in the water status, chlorophyll fluorescence and antioxidant defense systems of wheat leaves with cadmium stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 155, p. 66-75, 2018.

PRADO, R. M. Nutrição de plantas. 1. ed. São Paulo: Ed. UNESP, 2008. 407 p.

RODDA, M. R. C.; CANELLAS, L. P.; FAÇANHA, A. R.; ZANDONADI, D. B.; GUERRA, J. G. M.; ALMEIDA, D. L. D.; SANTOS, G. D. A. Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto: I-efeito da concentração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 649-656, 2006.

ROSA, R. V.; SANTOS, A. L. F.; SILVA, A. A.; SAB, M. P. V.; GERMINO, G. H.; CARDOSO, F. B.; SILVA, M.A. Increased soybean tolerance to water deficiency through biostimulant based on fulvic acids and *Ascophyllum nodosum* (L.) seaweed extract. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, p. 228-243, 2021.

SANTANIELLO, A.; SCARTAZZA, A.; GRESTA, F.; LORETI, E.; BIASONE, A.; DI TOMMASO, D.; PERATA, P. *Ascophyllum nodosum* seaweed extract alleviates drought stress in *Arabidopsis* by affecting photosynthetic performance and related gene expression. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1362, 2017.

SOUZA, J. N.; BRITO, P. O. B.; SOUSA FERREIRA, G.; ARRUDA, J. F.; GONDIM, F. A. Produção de matéria seca e atividade enzimática antioxidativa de plântulas de girassol sob condições de estresse salino suplementadas com *Salvinia auriculata*. **Nativa**, v. 11, n. 1, p. 44-52, 2023.

TREVISAN, S.; FRANCIOSO, O.; QUAGGIOTTI, S.; NARDI, S. Humic substances biological activity at the plant-soil interface: from environmental aspects to molecular factors. **Plant signaling & behavior**, v. 5, n. 6, p. 635-643, 2010.

VANCINI, R. L.; LIRA, C. A. B.; JÚNIOR, D. P. G.; SILVA, A. C.; NOUAILHETAS, V. L. A. Influência do exercício sobre a produção de radicais livres. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 10, n. 2, p. 47-58, 2005.

VASCONCELOS, A. C. F. D.; ZHANG, X.; ERVIN, E. H.; KIEHL, J. D. C. Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. **Scientia Agricola**, v. 66, p. 395-402, 2009.

VISSER, S. A. Physiological action of humic substances on microbial cells. Soil **Biology and Biochemistry**, v. 17, n. 4, p. 457-462, 1985.

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

APÊNDICE A — FOTOS DO EXPERIMENTO

FIGURA A — Experimento em ambiente protegido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão – UEPE Aeroporto - UFV – em andamento após 50 DAS (Cultivar TMG 2372 IPRO- esquerda) e (TMG 2374 IPRO- direita)



FIGURA B — Experimento em ambiente protegido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão – UEPE Aeroporto - UFV - Visão geral do experimento em estágio reprodutivo R5



FIGURA C — Experimento em ambiente protegido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão – UEPE Aeroporto - UFV - Visão geral do experimento em estágio reprodutivo R7



FIGURA D — Experimento em ambiente protegido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão – UEPE Aeroporto – UFV- Análise de fluorescência da clorofila aos 67 DAS

