

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE SETE LAGOAS - UNIFEMM  
COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E EXTENSÃO  
PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM  
BIOTECNOLOGIA E GESTÃO DA INOVAÇÃO**

**NATANAEL TAVARES DE OLIVEIRA**

**METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DO SISTEMA RADICULAR DE PLÂNTULAS  
DE MILHO SOB EFEITO DE BIOESTIMULANTES**

**SETE LAGOAS**

**2016**

**NATANAEL TAVARES DE OLIVEIRA**

**METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DO SISTEMA RADICULAR DE PLÂNTULAS  
DE MILHO SOB EFEITO DE BIOESTIMULANTES**

**Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Biotecnologia e Gestão da Inovação do Centro Universitário de Sete Lagoas – UNIFEMM, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre.**

**Área de Concentração: Biotecnologia e Gestão Inovação**

**Orientadora: Profa. Dra. Sylvia Morais de Sousa Tinoco**

**SETE LAGOAS**

**2016**

O48m Oliveira, Natanael Tavares de  
2016

Metodologia para avaliação do sistema radicular de plântulas de milho sob efeito de bioestimulantes. / Natanael Tavares de Oliveira. – 2016.

57 f.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Sylvia Morais de Sousa Tinoco

Dissertação (Mestrado Profissional em Biotecnologia e Gestão da Inovação). UNIFEMM. COPPEX.

1. Milho – Cultivo - Solução nutritiva. 2. Bioestimulantes - Milho. 3. Sistema radicular. I. Tinoco, Sylvia Morais de Sousa. II. UNIFEMM-Centro Universitário de Sete Lagoas. Coordenação de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão . III. Título.

CDD: 633.15


**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE SETE LAGOAS – UNIFEMM  
MESTRADO PROFISSIONAL EM BIOTECNOLOGIA E GESTÃO DA  
INOVAÇÃO**


**NATANAEL TAVARES DE OLIVEIRA**

**METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DO SISTEMA RADICULAR DE  
PLÂNTULAS DE MILHO SOB EFEITO DE BIOESTIMULANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Mestrado Profissional em Biotecnologia  
e Gestão da Inovação do Centro  
Universitário de Sete Lagoas – UNIFEMM,  
como requisito parcial à obtenção do  
grau de Mestre.

Aprovada em 25 de fevereiro de 2016, pela Banca Examinadora constituída  
pelos seguintes professores:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Sylvia Morais de Sousa Tinoco - Orientadora  
UNIFEMM/Embrapa Milho e Sorgo/UFSJ

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Álvaro Vilela Resende  
Embrapa Milho e Sorgo/UFSJ

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ivanildo Evódio Marriel  
UNIFEMM/Embrapa Milho e Sorgo/UFSJ

Sete Lagoas, 25 de fevereiro de 2016.

## **AGRADECIMENTOS**

### **AGRADEÇO**

À minha filha Emanuely e a minha esposa Érika pelo incentivo, paciência e apoio,

Aos meus pais José Gomes e Maria Mazarêlo por acreditarem em mim,

À Profa. Adelaide pela confiança e estímulo constante,

À Profa. Sylvia pela orientação nesse trabalho, por todo apoio, pela disponibilidade em todos os momentos em que precisei e pela amizade,

À funcionária da Embrapa Gislene pela paciência e ensinamentos,

À Empresa de Água Mineral Florença pelo apoio financeiro,

Ao Centro Universitário de Sete Lagoas (UNIFEMM) pela concessão da bolsa de estudos,

À Embrapa Milho e Sorgo de Sete Lagoas pela disponibilização de suas estruturas laboratoriais,

A todos que contribuíram de alguma forma para realização desse trabalho.

## RESUMO

Os bioestimulantes são amplamente utilizados na agricultura moderna e são compostos por substâncias e/ou microrganismos que podem aumentar o desenvolvimento vegetal. Eles podem ser aplicados diretamente nas plantas ou na rizosfera, a fim de estimular os processos naturais que melhoram a absorção e utilização de nutrientes, a tolerância a estresses abióticos e a produção. Apesar da crescente utilização dos bioestimulantes na agricultura, há pouca informação sobre o seu mecanismo de ação. Há vários produtos no mercado e muitos são extraídos de substâncias húmicas (SH), que afetam a fisiologia das plantas, principalmente o desenvolvimento radicular. Estudos com aminoácidos individuais sugerem que estes podem desempenhar um papel na regulação da sinalização de aquisição de nutrientes através das raízes. O objetivo desse trabalho foi estabelecer um protocolo de avaliação do sistema radicular de plântulas de milho sob efeito de bioestimulantes à base de SH e aminoácidos. Inicialmente foram avaliados aspectos da morfologia radicular e peso seco de dois genótipos comerciais de milho crescidos em solução nutritiva com os bioestimulantes A (à base de SH), o B e C (à base de aminoácidos), em um sistema de pasta de papel. Esse ensaio indicou que o genótipo 1 foi o mais responsivo aos tratamentos e que o sistema de pasta não era adequado para avaliação dos bioestimulantes. Nos experimentos posteriores foi utilizado o sistema de *floating* com diversas concentrações dos bioestimulantes e tempos de tratamento. Além disso, foram avaliadas as plântulas de milho sob um período de aclimação. Após diferentes testes, ficou determinado que a metodologia mais adequada para avaliação dos bioestimulantes foi realizar a aclimação das plantas durante sete dias em solução de Hoagland meia força (pH 5,65) pelo sistema *floating*, com adição de 54,4, 5 e 5  $\mu\text{L L}^{-1}$  de bioestimulantes A, B e C, respectivamente, deixando as plântulas no sistema por mais sete dias. Nessa condição, houve um aumento na área de superfície total da raiz, área de superfície de raízes com diâmetro entre 1-2 mm e 2-4,5 mm e peso seco total. Esse método permitirá o desenvolvimento de experimentos moleculares e fisiológicos que levarão a uma melhor compreensão da ação dos bioestimulantes.

Palavras-chave: Promotores de crescimento. Raiz. Solução nutritiva.

## ABSTRACT

The biostimulants are widely used in modern agriculture and are composed of substances and/or microorganisms that can increase plant development. They can be applied directly in the plants or in the rhizosphere, aiming to stimulate natural processes that improve the absorption and utilization of nutrients, tolerance to abiotic stresses and yield. Despite the increase of biostimulants use in agriculture there is not much information about their action mechanisms. There are several products in the market and many of them are extracted from humic substances (HS), which affect plant physiology, especially root development. Studies with individual aminoacids suggest that they play a role in the regulation of nutrient acquisition signaling through the roots. The aim of this study was to establish a root morphology evaluation protocol for maize seedlings under HS and aminoacid biostimulants. Initially, we evaluated root morphology aspects and dry weight of two maize commercial genotypes grown in nutrient solution with biostimulant A (HS), B and C (Aminoacids) in a paper pouch system. This test indicated that the genotype 1 was more responsive to the treatments and that the paper pouch system was not suitable for biostimulants assessment. In later experiments, we used the floating system with various concentrations of biostimulants and treatment times. In addition, we evaluated maize seedlings with an acclimatization period. After different tests, we determined that the most suitable methodology for biostimulants evaluation was an acclimatization of maize plantlets for seven days with half strength Hoagland's nutrient solution (pH 5.65) in a floating system, with the addition of 54.4, 5, 5 mL L<sup>-1</sup> of biostimulants A, B and C, respectively, leaving the plantlets in the system for more seven days. In this condition, there was an increase in root total surface area, root surface area of roots with diameter between 1-2 mm and 2-4.5 mm and total dry weight. This method will allow the development of molecular and physiological experiments that will shed a light on bioestimulants action mechanisms.

Keywords: Growth promoters. Root. Nutrient solution.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema estrutural da molécula de um aminoácido.....	17
<b>Figura 2.</b> Esquema de crescimento de plantas em pasta.....	23
<b>Figura 3.</b> Sistema de crescimento <i>floating</i> de plântulas de milho em solução nutritiva.....	26
<b>Figura 4.</b> Comprimento radicular total (cm) de dois genótipos de milho tratados com cinco doses de bioestimulante A e um controle negativo 3 (A), 6 (B), 10 (C) e 13 (D) dias após o início do tratamento.....	33
<b>Figura 5.</b> Comprimento radicular total (cm) de dois genótipos de milho tratados com cinco doses de bioestimulante B e um controle negativo 3 (A), 6 (B), 10 (C) e 13 (D) dias após o início do tratamento. ....	34
<b>Figura 6.</b> Comprimento radicular total (cm) de dois genótipos de milho tratados com cinco doses de bioestimulante C e um controle negativo 3 (A), 6 (B), 10 (C) e 13 (D) dias após o início do tratamento.....	35
<b>Figura 7.</b> Comprimento radicular total (cm) de plântulas de milho tratadas com três doses de bioestimulante A e um controle negativo 3 (A), 7 (B) e 10 (C) após o início do tratamento. ....	39
<b>Figura 8.</b> Comprimento radicular total (cm) de plântulas de milho tratadas com três doses de bioestimulante B e um controle negativo 3 (A), 7 (B) e 10 (C) após o início do tratamento. ....	39
<b>Figura 9.</b> Comprimento radicular total (cm) de plântulas de milho tratadas com três doses de bioestimulante C e um controle negativo 3 (A), 7 (B) e 10 (C) após o início do tratamento. ....	40
<b>Figura 10.</b> Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho após três dias de tratamento com duas doses do bioestimulante A e controle negativo.....	43
<b>Figura 11.</b> Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho após três dias de tratamento com duas doses do bioestimulante B e controle negativo.....	44
<b>Figura 12.</b> Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho após três dias de tratamento com duas doses do bioestimulante C e controle negativo.....	45



- Figura 13.** Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho após três dias de tratamento com os bioestimulantes A ( $54,4 \mu\text{L L}^{-1}$ ), B ( $5,0 \mu\text{L L}^{-1}$ ) e C ( $5,0 \mu\text{L L}^{-1}$ ) e controle negativo (C-)..... 49
- Figura 14.** Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho após sete dias de tratamento com os bioestimulantes A ( $54,4 \mu\text{L L}^{-1}$ ), B ( $5,0 \mu\text{L L}^{-1}$ ) e C ( $5,0 \mu\text{L L}^{-1}$ ) e controle negativo (C-)..... 50

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Concentração dos bioestimulantes A, B e C utilizados no ensaio 1. ....	23
<b>Tabela 2.</b> Concentração dos bioestimulantes A, B e C utilizados no ensaio 2. ....	24
<b>Tabela 3.</b> Concentração dos bioestimulantes A, B e C utilizados no ensaio 3. ....	24
<b>Tabela 4.</b> Concentração dos bioestimulantes A, B e C utilizados no ensaio 4. ....	25
<b>Tabela 5.</b> Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco de dois genótipos de milho avaliados sob efeito de doses crescentes do bioestimulante A em diferentes tempos de tratamento.....	30
<b>Tabela 6.</b> Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco de dois genótipos de milho avaliados sob efeito de doses crescentes do bioestimulante B em diferentes tempos de tratamento.....	31
<b>Tabela 7.</b> Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco de dois genótipos de milho avaliados sob efeito de doses crescentes do bioestimulante C em diferentes tempos de tratamento.....	32
<b>Tabela 8.</b> Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante A em diferentes tempos de tratamento.....	37
<b>Tabela 9.</b> Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante B em diferentes tempos de tratamento.....	37
<b>Tabela 10.</b> Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante C em diferentes tempos de tratamento.....	38
<b>Tabela 11.</b> Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante A.....	41

<b>Tabela 12.</b> Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante B.....	42
<b>Tabela 13.</b> Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante C.....	42
<b>Tabela 14.</b> Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito dos bioestimulantes A, B e C em dois tempos de tratamento.....	48

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
1.1 A Cultura do Milho .....	11
1.2 Bioestimulantes no Brasil .....	11
1.2.1 Bioestimulantes em outros países .....	12
1.3 Morfologia do Sistema Radicular de Milho .....	13
1.4 Efeito dos Bioestimulantes nas Plantas.....	14
1.4.1 Substância húmicas.....	15
1.4.2 Aminoácidos.....	17
<b>2 OBJETIVO</b> .....	<b>20</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
3.1 Material Genético e Bioestimulantes .....	21
3.2 Metodologia Utilizando Solução Nutritiva em Pasta – Ensaio 1 .....	21
3.3 Metodologia com a Solução Nutritiva Livre (Sistema <i>Floating</i> ) – Ensaio 2, 3 e 4 .....	244
3.4 Análise de Imagens e Peso Seco Total por Planta .....	26
3.5 Análise de Dados .....	27
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>
4.1 Análise do Sistema Radicular de Plântulas de Milho sob Efeito de Biostimulantes Utilizado a Metodologia de Pasta - Ensaio 1 .....	28
4.2 Análise do Sistema Radicular de Plântulas de Milho sob Efeito de Bioestimulantes Utilizando a Metodologia de Solução Livre (Sistema <i>Floating</i> ) – Ensaio 2, 3 e 4.....	35
4.2.1 Plântulas de milho em solução nutritiva de Hoagland no sistema solução livre (sistema <i>floating</i> ) - Ensaio 2 .....	35
4.2.2 Plântulas de milho aclimatadas em solução nutritiva de Hoagland por sete dias e sob efeito dos bioestimulantes por três dias - Ensaio 3 .....	40
4.3.3 Plântulas de milho aclimatadas em solução nutritiva de Hoagland por sete dias e sob efeito dos bioestimulantes por três e sete dias - Ensaio 4 .....	45
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>52</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>53</b>

## **1 INTRODUÇÃO**

### **1.1 A Cultura do Milho**

O milho (*Zea mays*) é uma das espécies mais antigas cultivadas em todo o mundo e no cenário mundial desempenha um papel de grande importância econômica. No Brasil, a produção de milho na safra 2014/2015 foi 84,7 milhões de toneladas cultivadas numa área de 15,69 milhões de hectares (CONAB, 2016).

O milho possui elevado potencial produtivo e tem alto valor nutricional, possuindo, em média, 72% de amido, 9,5% de proteínas, 9% de fibra e 4% de óleo nos grãos. Cerca de 15% de toda produção mundial é utilizada no setor alimentício para o consumo humano, de 70 a 85% na fabricação de rações para animais, e uma parte é utilizada como matéria-prima para a indústria de alta tecnologia, como a produção de filmes e embalagens biodegradáveis (PAES, 2006).

Para o cultivo do milho principalmente nas médias e grandes propriedades são empregadas tecnologias de ponta, incluindo o uso crescente de sementes melhoradas associada à aplicação via semente de fungicida, herbicidas, reguladores de crescimento (SANTOS *et al.*, 2013). Novos produtos para aplicação em diferentes épocas do plantio são lançados todos os anos, com a promessa de um melhor rendimento das culturas, por isso, o uso de produtos à base de hormônios, micronutrientes dentre outras substâncias estimulantes, vem sendo cada vez mais usados por produtores visando maior produtividade. A BB Agro, empresa de consultoria em agronegócio do Banco do Brasil, efetuou uma pesquisa em 2014 sobre os bioestimulantes e de acordo com os cálculos, o uso das substâncias promotoras de crescimento já movimentava por ano US\$ 230 milhões com previsão de crescimento para US\$ 500 milhões nos próximos três anos no Brasil. Um dos fatores preponderante para expansão desse mercado é o baixo custo desses produtos.

### **1.2 Bioestimulantes no Brasil**

Os bioestimulantes são definidos como uma mistura de reguladores de crescimento, que podem ser compostos por hormônios vegetais, ou hormônios sintéticos, que, quando aplicados na planta, agem diretamente na fisiologia do vegetal, potencializando o seu desenvolvimento. O surgimento de novos produtos agrícolas,

como os bioestimulantes à base de substâncias húmicas, vitaminas, aminoácidos e sais minerais vêm aumentando a cada ano. Os órgãos governamentais, como o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) atualmente liberam os bioestimulantes verificando apenas os teores de macro e micronutrientes e a presença de contaminantes, como é feito com agrotóxicos e fertilizantes convencionais, uma vez que não há critérios definidos de avaliação desses produtos no processo de germinação, crescimento, desenvolvimentos e ganho de produtividade das culturas (COLMAN *et al.*, 2013; DU JARDIN, 2015).

Existem muitos obstáculos para as empresas produtoras de estimulante vegetal no Brasil em relação ao registro seus produtos, pois ainda não existe uma legislação clara para essa classe de produtos. Atualmente, os bioestimulantes são registrados no MAPA na classe Regulador de Crescimento Vegetal na legislação de Agrotóxicos (MORAES, 2015; SILVA *et al.*, 2012). Existe a necessidade de pareceres técnicos de universidades, instituições de pesquisa agropecuária, como a EMBRAPA, para que o MAPA estabeleça ajustes na legislação visando o aumento da produtividade e qualidade dos produtos estimulantes comerciais e dessa forma, contribuindo para a mitigação de efeitos negativos do uso contínuo e irracional de fertilizantes convencionais e agrotóxicos (MORAES, 2015). Além disso, há a necessidade de estabelecer uma legislação e/ou uma classificação para a classe dos bioestimulantes, dessa forma esses produtos deixariam de serem regulamentados pelas normas dos agrotóxicos.

### **1.2.1 Bioestimulantes em outros países**

As empresas da União Europeia e dos Estados Unidos enfrentam o mesmo problema do Brasil, pois a carência global sobre o conhecimento dos mecanismos de ação de produtos biorreguladores e seus efeitos no metabolismo da planta dificulta a criação de decretos ou leis específicas para essa classe de produtos (COLMAN *et al.*, 2013; MORAES, 2015; DU JARDIN, 2015).

O Conselho Europeu da Indústria de Bioestimulantes (EBIC - *European Biostimulants Industry Council*) sugere a criação de uma nova categoria definida como bioestimulantes, sendo menos exigentes nos processos regulatórios que aqueles

relativos à biopesticidas e agrotóxicos, entretanto, mais criteriosos quanto à capacidade dos produtos bioestimulantes promoverem alterações fisiológicas positiva no vegetal. Nos Estados Unidos e na Europa, os esforços se concentram prioritariamente na criação de uma legislação específica para bioestimulantes, pois dessa forma poderá atender normas internacionais (CALVO *et al.*, 2014; DU JARDIN, 2015, MORAES, 2015).

### **1.3 Morfologia do Sistema Radicular de Milho**

As raízes dos vegetais possuem duas principais funções, sendo elas: a aquisição de água e nutrientes do solo, além de servir com suporte para planta. O estabelecimento adequado da arquitetura básica do sistema radicular é uma condicionante importante para a realização das atividades fisiológicas do vegetal. A estrutura do sistema radicular é moldada por um programa genético e modulada por fatores bióticos e abióticos (HOCHHOLDINGER *et al.* 2004a).

O sistema radicular do milho é composto por diferentes tipos de raízes, primária, laterais, seminais e adventícias, sendo a raiz primária a primeira estrutura a surgir do grão, e torna-se visível entre dois e três dias após a germinação (HOCHHOLDINGER *et al.*, 2004ab). As raízes seminais podem ser embrionárias, que também são conhecidas como raízes da semente, emergem do nó escutelar, localizado no embrião e pós-embrionárias ou nodais que originam a partir de nós localizados no mesocótilo. As raízes seminais embrionárias suprem a plântula principalmente de água, uma vez que, nesse momento, os nutrientes para a sua sobrevivência são provenientes das reservas da semente. Já as raízes laterais emergem da raiz primária, das raízes seminais e nodais (HOCHHOLDINGER *et al.* 2004b). No período em que planta sai do estágio de emergência o sistema radicular primário começa a perder sua importância, pois, há o surgimento do sistema das raízes pós-embrionárias. Entretanto, há muitas dúvidas sobre a vida curta das raízes embrionárias, uma vez que esse sistema é importante para o desenvolvimento inicial da planta (GONÇALVES *et al.*, 2014), apesar da maior parte do sistema radicular da planta adulta ser composto por raízes pós-embrionárias. As raízes adventícias surgem acima da superfície do solo e inicialmente eram consideradas apenas como raízes de suporte, porém há indícios que essas raízes podem absorver efetivamente fósforo e outros nutrientes (MAGALHÃES *et al.*, 1996).

## 1.4 Efeito dos Bioestimulantes nas Plantas

Bioestimulantes são associações de biorreguladores podendo apresentar duas ou mais substâncias promotoras de crescimento vegetal de natureza bioquímica diversa, aminoácidos, nutrientes, vitaminas, substâncias húmicas, extrato de algas, inóculos microbianos (LIMBERGER *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2014; TANAKA *et al.*, 2008, CALVO *et al.*, 2014). Os bioestimulantes podem ser definidos como produtos promotores de crescimento vegetal não nutritivos, sendo seu efeito baseado no estímulo a absorção de nutrientes e quelatos orgânicos e na promoção do equilíbrio hormonal da planta (ELLIOTT *et al.*, 1996). Normalmente são aplicados exogenamente em pequenas quantidades via foliar, solo ou semente e possuem ações similares a grupos de hormônios vegetais conhecidos, como por exemplo: o ácido indolbutírico, o qual é transformado pelo metabolismo da planta em ácido 3-indol acético (AIA), as auxinas que estimulam o alongamento celular, a citocinina que atua na divisão celular e o ácido giberélico, que atua em diversos passos do metabolismo das plantas, inclusive no processo de germinação das sementes. Esses fitormônios agem também na degradação das reservas das sementes e otimizam o potencial genético da planta (TECCHIO *et al.*, 2006; DU JANNIN *et al.*, 2012; KLAHOLD *et al.*, 2006; FERREIRA, *et al.*, 2007). Além disso, os bioestimulantes orgânicos tem um grande potencial para reduzir o uso de fertilizantes convencionais sem afetar o crescimento da planta (RUSSO; BERLYN 1990).

No entanto há um grande número de trabalhos relatando que o emprego de bioestimulantes não se mostrou eficaz, incluindo alguns casos de inibição do desenvolvimento da planta. Assim, a bioatividade dos bioestimulantes pode interagir positivamente ou negativamente com outras substâncias e microrganismos presente no solo, levando em alguns casos a resultados ineficientes (ZANDONADI *et al.*, 2014). É necessário, portanto, avançar no conhecimento sobre os bioestimulantes, uma vez que há necessidade de estabelecer parâmetros, procedimentos de aplicação e definição dos produtos mais adequados para cada cultura, evitando assim uma recomendação generalizada como vem sendo realizada pelos fabricantes.



### 1.4.1 Substância húmicas

Grande parte da matéria orgânica e dos sedimentos do solo é composta por substâncias húmicas (SH). Estudos mostram a importância das SH para agricultura por apresentarem diversos efeitos, especialmente em solos tropicais e subtropicais devido à capacidade dessas substâncias fornecerem nutrientes às culturas, atuarem na retenção de cátions, sequestrante de compostos tóxicos e micronutrientes, na retenção de água, na aeração e na manutenção microbiana do solo, contribuindo para melhorar a produtividade agrícola (LOSS *et al.*, 2010; ZANDONADI *et al.*, 2014).

O interesse em produtos à base de SH nas culturas como as de milho e soja vem crescendo devido os resultados positivos obtidos nos últimos anos (SILVA *et al.*, 2011). A principal fonte de extração de SH para a produção de fertilizantes orgânicos e organominerais, são de origem geológica rica em carbono humificado, tais como turfas, rochas, lignita, carvão, esterco e resíduos orgânicos (REUSA *et al.*, 1994).

As SH são basicamente formadas por ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e huminas. Esses compostos estimulam a produção de hormônios vegetais naturais (auxinas, citoquininas e giberelinas), atuando em sinergia, otimizando o crescimento vegetal, incluindo mecanismos fisiológicos responsáveis por estimular esse crescimento através de complexos solúveis com micronutrientes interagindo com constituintes enzimáticos da membrana plasmática, de forma semelhante à ação dos hormônios vegetais (SILVA *et al.*, 2011).

O desenvolvimento de raízes laterais está associado com a ativação da bomba de  $H^+$  induzida pelas SH presentes no ambiente. Os principais sistemas de transporte de prótons que operam nas células vegetais são as  $H^+$ -ATPases do tipo P (localizada na membrana plasmática),  $H^+$ -ATPases do tipo V (localizadas no tonoplasto) ambas responsáveis pela catálise da hidrólise de ATP e as  $H^+$ -PPases (localizadas também no tonoplasto) funcionando como bomba de prótons acoplada a hidrólise de PPI (COLODETE, 2013). As bombas de  $H^+$ , localizadas na membrana plasmática e na membrana vacuolar (tonoplasto), responsáveis pela geração do gradiente eletroquímico que energiza os transportadores de íons e moléculas, utilizados na absorção de nutrientes pelas células, ainda são responsáveis, pela acidificação do apoplasto e pela turgescência vacuolar, gerando condições

necessárias para a expansão celular (CANELLAS, 2005). As bombas de  $H^+$  são importantes marcadores bioquímicos de bioatividade das substâncias húmicas. Uma vez que subunidades estruturais de ácidos húmicos (AH) podem acessar receptores na superfície ou no interior da membrana plasmática das células das raízes, promovendo a síntese de  $H^+$ -ATPase de membrana (FAÇANHA *et al.*, 2002).

Estudos mostram que a utilização de SH em vegetais, proporciona um aumento na atividade das bombas de  $H^+$  o que favorece a indução da emissão de pelos radiculares e de raízes laterais finas, o que resultaria, principalmente, no aumento na área superficial do sistema radicular, trazendo uma série de benefícios para a planta, melhorando especialmente a absorção de nutrientes e água presentes no solo (CANELLAS, 2005). Por exemplo, foi observado melhor desenvolvimento do sistema radicular, acúmulo de nutrientes na matéria seca das folhas e do caule em mudas de eucalipto cultivadas em solução nutritiva com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido húmico (ADANI, 1998). Plantas de milho crescidas com SH extraídas de carvões na concentração de  $30 \text{ mg L}^{-1}$ , mostraram aumento significativo do sistema radicular, parte aérea, comprimento da raiz, área de superfície radicular, peso seco da raiz, folha e dos colmos (SIEWERDT *et al.*, 1999). Resultado semelhante foi observado por Façanha *et al.* (2002) e Canellas *et al.* (2002), quando cresceram plântulas de milho com doses crescentes de ácido húmico extraído de lodo de Estação de Tratamento de Efluente (ETE) e de vermicomposto. Além disso, Quaggiotti *et al.* (2004), observaram aumento da absorção de nitrato pelo sistema radicular e acúmulo de nutrientes nas folhas de plântulas de milho tratadas com SH.

Em contrapartida, Albregts *et al.* (1988), testaram ácido húmico em plantação de morango, porém não encontraram aumento significativo na produção de frutos. Laiche (1991) também observou redução na taxa de crescimento e matéria seca ao aplicar ácido húmico de forma isolada em quatro espécies de plantas ornamentais. Já Kelting *et al.* (1997), aplicaram um bioestimulante à base de substâncias húmicas em plantas de avelã turco por imersão das raízes e observaram redução do diâmetro do caule, folhas e massa seca em relação ao controle.

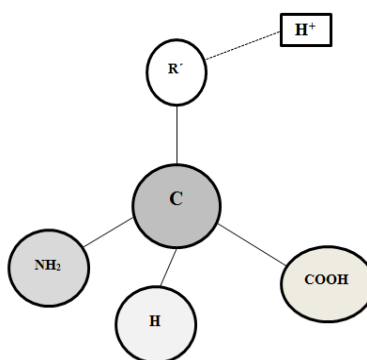
Resultados positivos ou negativos promovidos com o uso de produtos bioestimulantes dependem de uma série de fatores, tais como: a espécie ou cultivar, o órgão ou idade ideal da planta para aplicação. Outro fator é a fonte de extração das SH e suas propriedades físico-químicas, além da concentração recomendada para cada cultura (ZANDONADI, *et al.*, 2014). A inobservância desses fatores poderá levar

a resultados indesejáveis, ocasionado prejuízos significativos em lavouras. Apesar de existirem diversos trabalhos com SH, ainda são necessários estudos para o melhor entendimento sobre o efeito dessas substâncias no complexo processo de desenvolvimento radicular (ZANDONADI, 2007).

#### 1.4.2 Aminoácidos

Os aminoácidos são moléculas com características estruturais em comum, formados por um carbono central, quase sempre assimétrico, ligado a um grupo carboxila (COOH), um grupo amino (NH<sub>2</sub>) e um átomo de hidrogênio (FIG. 1). Além dessas estruturas, os aminoácidos possuem um radical chamado “R” que os diferenciam (CASTRO *et al.*, 2008; LAMBAIS, 2011).

**Figura 1.** Esquema estrutural da molécula de um aminoácido



Fonte: Adaptado de Lambais, 2011.

Os aminoácidos têm sido empregados na agricultura há décadas nas mais diversas culturas. Empresas que fabricam produtos à base de aminoácidos vêm aumentando a cada dia, e colocando no mercado uma série considerável desses produtos (CASTRO *et al.*, 2008). Um exemplo é o ácido L-glutâmico que é um aminoácido obtido a partir da fermentação do melaço da cana de açúcar pela bactéria *Corynebacterium glutamicum* (LIMBERGER *et al.*, 2012).

A aplicação de aminoácidos nos vegetais, principalmente nas folhas, leva a formação de proteínas hidrolisadas que incorporam nutrientes catiônicos dos elementos Ca, Mg, K, Fe, Cu, Zn e Mn (DU JARDIN, 2015). Esses nutrientes se unem por ligações iônicas com os grupos amino (NH<sub>2</sub>) e carboxílico (COOH) e com os íons metálicos complexados formando uma estrutura chamada de quelato orgânico. O

quelato exerce um papel importante na absorção de macro e micronutrientes uma vez que a alta permeabilidade dos aminoácidos aumenta a eficiência de absorção dos nutrientes via foliar (LAMBAIS, 2011; DARIO *et al.*, 2014). Além disso, os aminoácidos quelatizados penetram através das diversas camadas da cutícula e parede celular sem interagir com elas, uma vez que por transporte ativo tem a capacidade de atravessar o plasmalema e assim os compostos separados dentro dos tecidos vegetais assumem papéis funcionais em vários processos metabólicos da planta (LAMBAIS, 2011; DARIO *et al.*, 2014).

São atribuídas várias funções aos aminoácidos quando se trata de fitormônio, as principais são: (i) síntese de proteínas, (ii) compostos intermediários dos hormônios vegetais endógenos, (iii) efeito complexante em nutrientes e agroquímicos (iv) garantir maior resistência a estresse hídrico e de altas temperaturas, (v) proporcionar maior resistência ao ataque de pragas (DU JARDIN, 2015). Entretanto tais atribuições requerem melhor compreensão. Mesmo com grande número de pesquisas sobre os efeitos dos aminoácidos nos vegetais, ainda precisam ser esclarecidas algumas dúvidas, por exemplo, como ocorre a absorção de aminoácidos pelos vegetais, como a planta utiliza os aminoácidos exógenos e quais os locais de ação do metabolismo vegetal.

Aminoácidos como proteínas hidrolisadas (PHs) de origem vegetal são utilizadas para compor produtos bioestimulantes que podem ser usados em solo ou solução nutritiva. Plântulas de milho tratadas com produto à base de PHs tiveram maior massa seca, teor de clorofila e de nitrogênio na parte aérea quando crescidas em vasos na casa de vegetação (COLLA *et al.*, 2013). Além disso, a alface crescida em solução nutritiva no sistema *floating* com os mesmos produtos apresentou aumento da biomassa radicular e do teor de clorofila nas folhas (COLLA *et al.*, 2013). Já, Ertani *et al.* (2009), testaram duas PHs diferentes, sendo uma de origem animal e o outra de origem vegetal, em plântulas de milho e observaram que ambos os tratamentos promoveram o crescimento das raízes e das folhas, induziram alteração na morfologia do sistema radicular, além de aumentarem a nitrato redutase e a glutamina sintetase, que são enzimas ligadas à assimilação de nitrogênio.

Há também outros indícios de aumento da assimilação de N pelos vegetais usando aminoácidos. Plântulas de rabanete tratadas com uma mistura de aminoácidos (MAA) tiveram um aumento da assimilação do nitrato de 305% quando comparado ao controle no tratamento com 3,0  $\mu\text{M}$  de MAA (LIU; LEE, 2012). Em

contraste, pode ser observada a inibição da absorção de  $\text{NO}_3^-$  em alguns trabalhos. Muller e Touriane, (1992), testaram 14 aminoácidos individualmente em plântulas de soja, e mostraram que oito desses aminoácidos provocaram inibição da absorção de nitrato. Além disso, foi observada a redução da atividade da nitrato redutase em raiz e conseqüentemente da assimilação de N quando as plântulas de milho foram submetidas a tratamentos com ácido glutâmico (IVASHIKINA; SOKOLOV, 1997).

Há benefícios na utilização dos aminoácidos em vegetais, porém ainda existem muitas controvérsias em relação à maneira de se utilizar essas substâncias, pois estudos mostram que aplicação dos aminoácidos de forma isolada não demonstra eficácia, sendo importante a realização de experimentos para definir a forma correta e as condições de aplicação para cada cultura (CASTRO, *et al.*, 2008, LAMBAIS, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2013). A eficiência do uso de aminoácidos na agricultura irá depender da espécie, da idade da planta, de condições de crescimento, disponibilidade de nutrientes, tipos e concentrações dos aminoácidos (LIU; LEE, 2012).

Diante de tantas informações, recomendações e provas empíricas quanto o real efeito de bioestimulantes, esse trabalho buscou contribuir com a criação de protocolos para avaliação da ação de bioestimulantes no sistema radicular de plântulas de milho.

## **2 OBJETIVO**

Estabelecer protocolos de avaliação de bioestimulantes à base de ácidos húmicos e aminoácidos no crescimento radicular em plântula de milho em solução nutritiva.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Material Genético e Bioestimulantes

O trabalho foi conduzido na Câmara de Crescimento da Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas – Minas Gerais. Foram utilizados dois genótipos de milho: L521236/CMSM036 (Genótipo 1) e L521274/CMSM033 (Genótipo 2) do Programa de Melhoramento de Milho da Embrapa Milho e Sorgo, para avaliar qual seria o genótipo mais responsivo aos tratamentos com bioestimulantes.

Foram utilizados três produtos bioestimulantes, sendo dois comerciais e um em fase experimental. O primeiro produto comercial Black Gold (BIOESTIMULANTE A) é produzido pela empresa FORTGREEN, à base de Substância Húmica (SH) obtido a partir de leonardita e composto por 0,5 % de N, 16,7 % de ácidos húmicos, 14,0 % de carbono orgânico total, 18,0 % de extrato húmico total, 1,3 % de ácidos fúlvicos, com pH 4,0 e densidade 1,1 g/cm<sup>3</sup>. O segundo produto comercial é o AMINO®Plus (BIOESTIMULANTE B) produzido pela empresa AJINOMOTO FERTILIZANTES à base de aminoácidos obtido a partir de substâncias organominerais e possui em sua composição 11,0 % de N, 1,0 % de K<sub>2</sub>O, e 6,0 % de carbono orgânico total, com densidade de 1,25 g/cm<sup>3</sup>. Já o terceiro produto ainda em fase experimental, rotulado para este trabalho como (BIOESTIMULANTE C) é produzido também pela empresa AJINOMOTO FERTILIZANTES à base de aminoácido obtido a partir de substâncias organominerais, cuja composição química não informada.

#### 3.2 Metodologia Utilizando Solução Nutritiva em Pasta – Ensaio 1

As concentrações do bioestimulante A utilizadas no ensaio 1 foram determinadas pela recomendação do fabricante e na observação dos resultados obtidos por Pinheiro (2009); Adani *et al.* (1998) e Siewerdt *et al.* (1999), sendo utilizadas doses equivalentes à concentração de ácido húmico de 2 a 80 mg/L. As concentrações dos bioestimulantes B e C foram calculadas conforme a recomendação do fabricante e Lambais (2011).

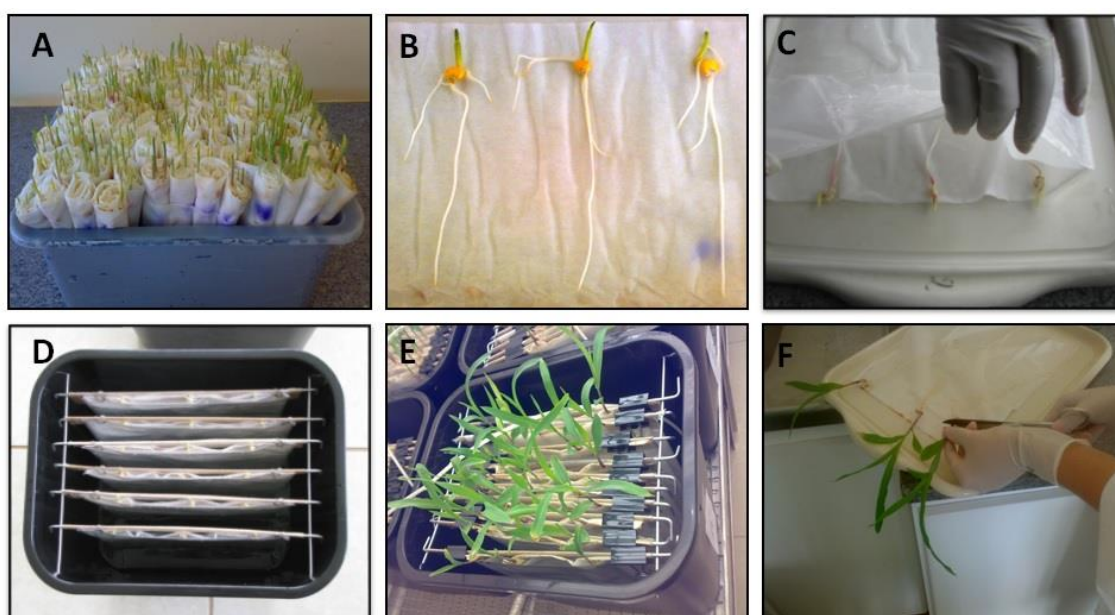
No ensaio 1 foram testadas cinco doses dos bioestimulantes A, B e C e mais o controle (sem bioestimulante) (TAB. 1), e quatro tempos de coleta (3, 6, 10 e

13 dias após o início do tratamento). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições com três plantas por pasta.

As sementes de milho dos genótipos 1 e 2 foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 0,5% por cinco minutos, lavadas com água deionizada e germinadas em papel de germinação em câmara de crescimento. Após a germinação das sementes por quatro dias, três plântulas uniformes foram selecionadas para cada uma das três repetições e transplantadas para um sistema composto de pastas de arquivo forradas com papel de germinação (DE SOUSA *et al.*, 2012) e colocadas em baldes com cinco litros de solução nutritiva de Magnavaca meia força (pH 5,65) (MAGNAVACA *et al.*, 1987) com e sem bioestimulante (FIG. 2). A solução nutritiva foi trocada a cada três dias e estes sistemas foram mantidos em câmara de crescimento com temperatura diurna média de  $27\pm 3$  °C, noturna de  $20\pm 3$  °C e fotoperíodo de 12 horas, sob aeração contínua.



**Figura 2.** Esquema de crescimento de plantas em pasta. A) Plântulas de milho com quatro dias de germinação em rolos de papel, B) Plântulas uniformes de milho, C) Plântulas selecionadas para montagem no sistema de pastas com papel de germinação e saco plástico, D) Sistema de pastas em balde com solução nutritiva E) Plântulas crescendo em pastas de papel de germinação em câmara de crescimento sob condições controladas em solução nutritiva, F) Parte aérea sendo separada da raiz após o término do experimento.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Tabela 1.** Concentração dos bioestimulantes A, B e C utilizados no ensaio 1.

Bioestimulante A ( $\mu\text{L L}^{-1}$ )	Bioestimulante B ( $\mu\text{L L}^{-1}$ )	Bioestimulante C ( $\mu\text{L L}^{-1}$ )
0	0	0
10,88	5	5
54,4	10	10
108,8	50	50
218	500	500
436	1000	1000

Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

### 3.3 Metodologia com a Solução Nutritiva Livre (Sistema Floating) – Ensaio 2, 3 e 4

No ensaio 2, foram testadas três doses dos Bioestimulantes A, B e C e mais o controle (sem bioestimulante) (TAB. 2) e foi utilizado o genótipo 1 crescendo em solução de Magnavaca meia força do sistema *floating*. Foram realizadas três coletas com 3, 7 e 10 dias após o início do tratamento. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições com cinco plantas cada.

**Tabela 2.** Concentração dos bioestimulantes A, B e C utilizados no ensaio 2.

Bioestimulante A ( $\mu\text{L L}^{-1}$ )	Bioestimulante B ( $\mu\text{L L}^{-1}$ )	Bioestimulante C ( $\mu\text{L L}^{-1}$ )
0	0	0
54,4	5	5
108,8	10	10
436,0	50	50

Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

No ensaio 3, foram testadas duas doses dos Bioestimulantes A, B e C mais o controle (sem bioestimulante) (TAB. 3) e foi utilizado o genótipo 1 crescendo em de Magnavaca meia força do sistema *floating*. As doses foram determinadas com base nos resultados do ensaio 2. As plantas ficaram em solução Hoagland meia força por sete dias para aclimação e a coleta foi feita três dias após o início do tratamento. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições com cinco plantas cada.

**Tabela 3.** Concentração dos bioestimulantes A, B e C utilizados no ensaio 3.

Bioestimulante A ( $\mu\text{L L}^{-1}$ )	Bioestimulante B ( $\mu\text{L L}^{-1}$ )	Bioestimulante C ( $\mu\text{L L}^{-1}$ )
0	0	0
54,4	5	5
436	50	50

Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

No ensaio 4, foi testada uma dose dos Bioestimulantes A, B e C mais o controle (sem bioestimulante) (TAB. 4) e foi utilizado o genótipo 1 crescendo em solução

de Magnavaca meia força do sistema *floating*. A dose foi determinada com base nos resultados do ensaio 3. As plantas ficaram em solução Hoagland meia força por sete dias para aclimatação e a coleta foi feita três e sete dias após o início do tratamento. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições com cinco plantas cada.

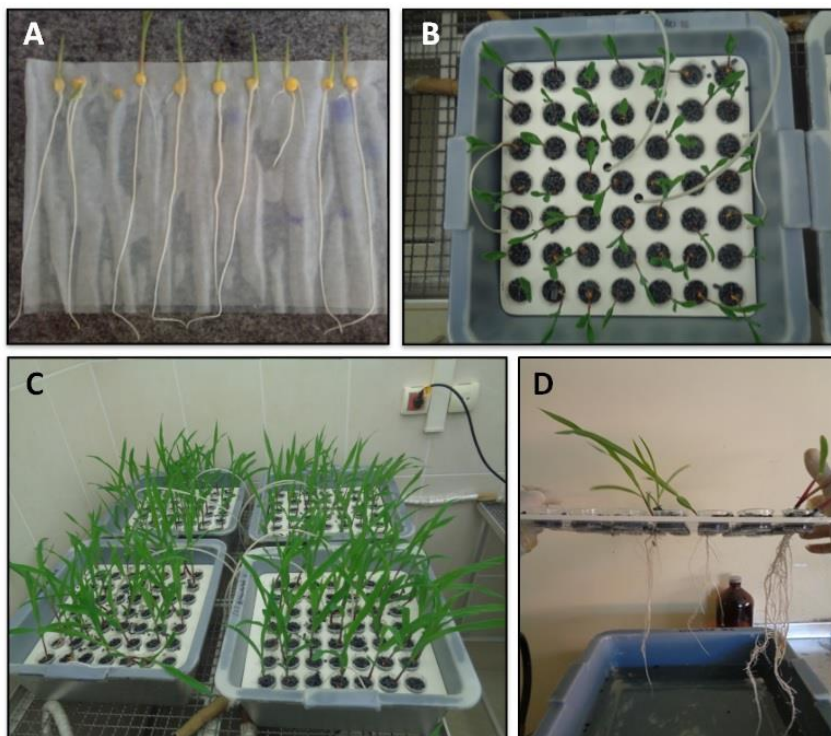
**Tabela 4.** Concentração dos bioestimulantes A, B e C utilizados no ensaio 4.

Tratamento	$\mu\text{L L}^{-1}$
Controle	0
Bioestimulante A	54,4
Bioestimulante B	5,0
Bioestimulante C	5,0

Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

As sementes de milho do genótipo 1 foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 0,5% por cinco minutos, lavadas e embebidas durante quatro horas em água deionizada e germinadas em papel de germinação em câmara de crescimento. Após a germinação das sementes por quatro dias, plântulas uniformes foram selecionadas e transplantadas para um sistema composto bandejas plásticas e opacas (FIG. 3) contendo oito litros de solução nutritiva Hoagland meia força pH 5,65 (LIU *et al.*, 1998). A raiz de cada plântula foi fixada a orifícios circulares de copos de polietileno e encaixadas em placas plásticas apoiadas sobre as bandejas com solução nutritiva e doses crescentes dos bioestimulantes A, B e C. A solução nutritiva foi trocada a cada três dias e as plantas mantidas em câmara de crescimento com temperatura diurna média de  $27\pm 3$  °C, noturna de  $20\pm 3$  °C e fotoperíodo de 12 horas, sob aeração contínua.

**Figura 3.** Sistema de crescimento *floating* de plântulas de milho em solução nutritiva. A) Seleção de plântulas uniformes após quatro dias de germinação, B) Bandeja montada com plântulas de milho, C) Plântulas crescendo em solução livre sob condições controladas e aeração, D) Plântulas de milho em copos de polietileno após término do experimento.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

### 3.4 Análise de Imagens e Peso Seco Total por Planta

Em todos os experimentos o sistema radicular foi separado da parte aérea e o sistema radicular fotografado com uma câmera digital (Nikon D300S SLR). As imagens obtidas foram analisadas com o auxílio dos softwares RootReader2D e WinRhizo v. 4.0 (Regent Systems, Quebec, Canadá), sendo quantificadas as características relacionadas a morfologia radicular: comprimento total (cm) (CRT), superfície total (cm<sup>2</sup>) (AST), diâmetro médio (mm) (DM), além de área de superfície de raízes com diâmetro entre 0,0 e 1,0 mm (AS1), 1,0 e 2,0 mm (AS2) e 2,0 e 4,5 mm (AS3) (SOUSA *et al.*, 2012).

Além das características do sistema radicular, foi determinado o peso seco da parte aérea e raiz. A raiz e a parte aérea foram colocadas separadamente em sacos de papel e secos em estufa com circulação forçada a 65 °C e pesados em balança de

precisão após a obtenção do peso constante. O peso seco total (PST) foi calculado somando-se o peso seco da parte aérea e a da raiz. Além disso, o peso seco dentro de cada repetição foi dividido pelo número de plantas dentro da repetição, obtendo-se o peso seco total por planta.

### **3.5 Análise de Dados**

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo programa computacional SISVAR versão 5.4 (FERREIRA, 2011) e as médias comparadas pelo teste LSD ( $P < 0,05$ ) para avaliação do sistema radicular de plântulas de milho sob diferentes concentrações dos bioestimulantes e tempos de tratamento.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise do Sistema Radicular de Plântulas de Milho sob Efeito de Bioestimulantes Utilizado a Metodologia de Pasta - Ensaio 1

Na análise de variância para o teste entre genótipos (G) utilizando os bioestimulantes A, B e C, foram observadas diferenças significativas para todas as características selecionadas para avaliação (TAB. 5, 6 e 7). O comprimento radicular total do genótipo 1 foi maior do que o do genótipo 2 em todas as condições testadas, indicando que os genótipos 1 e 2 são contrastantes quanto a morfologia do sistema radicular (FIG. 4, 5 e 6). Para dose (D) de bioestimulante foram observadas diferenças significativas para área de superfície entre 1,0 e 2,0 mm para o bioestimulante A, para comprimento total, diâmetro médio e área de superfície entre 0 e 1,0 mm para bioestimulante B e para todas as características com exceção de peso seco total para o bioestimulante C (TAB. 5, 6 e 7). Para os bioestimulantes A e C ocorreu inibição do crescimento radicular a medida que se aumentou a dose do bioestimulante, havendo redução do comprimento radicular total, enquanto para o bioestimulante B não houve diferença significativa entre os tratamentos (FIG. 4, 5 e 6). Para todos os bioestimulantes a diferença foi significativa para todas as características quando considerada a coleta (C), uma vez que há crescimento radicular com o tempo de desenvolvimento das plantas (TAB. 5, 6 e 7).

Para a interação GxD a análise variância foi significativa para as características, comprimento total, área de superfície total, diâmetro médio e área de superfície entre 1,0 e 2,0 mm quando analisado o bioestimulante A. Para o bioestimulante B houve diferença para comprimento total, diâmetro médio e área de superfície entre 0 e 1,0 mm, enquanto para o bioestimulante C, houve diferença significativa para todas as características, com exceção de área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total. Para a interação GxC todas as características tiveram diferenças significativas, com exceção de peso seco total considerando todos os bioestimulantes e área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm para o bioestimulante C. Os resultados das interações mostraram que há diferença entre os genótipos e que os genótipos se desenvolveram independentemente dos tratamentos. Nas interações entre dose e coleta (DxC), não houve diferença significativa para a maioria das características, exceto em área de superfície entre 0 e 1,0 mm, área de superfície

entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total para o bioestimulante A e área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total para o bioestimulante C. Nas interações triplas (GxDxC), houve diferenças significativas para comprimento total da raiz, área de superfície total, área de superfície entre 0 e 1,0 mm e área de superfície entre 1,0 e 2,0 mm, considerando o bioestimulante A, para área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm para o bioestimulante B e para comprimento total da raiz, área de superfície total e área de superfície entre 1,0 e 2,0 mm, considerando o bioestimulante C. Os resultados sugerem que sob altas doses do bioestimulante ocorre inibição do crescimento radicular, especialmente considerando o genótipo 1. O genótipo 2 apresentou ter desenvolvido mais raízes com diâmetro entre 2 e 4,5 mm do que o genótipo 1, tal resultado pode ser observado dentro de os tratamentos, inclusive no controle, o que pode inferir que o efeito bioestimulante não afetou essas diferenças. No entanto, mesmo não havendo diferenças significativa para as características radiculares foi observado que em altas doses do bioestimulante B, com três e seis dias de tratamentos, o contraste entre os genótipos foi reduzido, indicando que doses altas do bioestimulante B podem ter inibido o genótipo 1 e não ter afetado o genótipo 2.

Os resultados nesse ensaio, não apresentaram uma resposta clara aos produtos testados, embora tenha ocorrido, especialmente para os bioestimulantes A e C, inibição do crescimento radicular. O contraste da morfologia radicular foi consistente entre os genótipos independente dos tratamentos e tempo de análise. Apenas sob efeito do bioestimulante B no início do tratamento houve redução da diferença entre os genótipos, indicando que o genótipo 2 é menos responsivo a esse tipo de bioestimulante em altas doses do que o genótipo 1. As plantas podem não responder (KELTING *et al.*, 1997) ou responder negativamente aos bioestimulantes, levando a inibição no crescimento vegetativo (ELLIOTT *et al.*, 1996). Respostas negativas aos bioestimulantes são influenciadas por vários fatores, (1) a espécie, o órgão e a idade da planta; (2) a dose recomendada para cada espécie ou cultivar; (3) a fonte de material orgânico, de onde foi extraída e; (4) as características físico-químicas específicas das substâncias húmicas a serem utilizadas (ZANDONADI, *et al.*, 2014). Além disso, a metodologia pode não ter sido adequada, pois no sistema de pastas o bioestimulante pode ter ficado retido no papel de germinação. Nessa metodologia os nutrientes alcançam as raízes por capilaridade com alta precisão para testes com íons dissociados, porém, para esses experimentos, foi empregado os bioestimulantes, que são de origem orgânica, que podem ter formado quelatos

orgânicos com os íons da solução, dificultado dessa forma veiculação através do papel (LAMBAIS, 2011; DARIO *et al*, 2014).

**Tabela 5.** Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco de dois genótipos de milho avaliados sob efeito de doses crescentes do bioestimulante A em diferentes tempos de tratamento. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm<sup>2</sup>), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm<sup>2</sup>) e peso seco total (PST) (g).

FV	GL	Quadrado Médio						
		CTR	AST	DM	AS1	AS2	AS3	PST
Genótipos ( G )	1	542677,88**	61,454**	2,12**	6,165**	32,415**	631**	0,0851**
Dose (D)	5	4700,86ns	918ns	0,02ns	46ns	272*	56ns	0,0001ns
Coleta (C)	3	575906,45**	81,920**	7,64**	6,156**	25,378**	853**	0,0036**
G X D	5	5247*	1,193*	0,03*	44ns	322*	117ns	0,0006ns
G X C	3	67390**	4,872**	0,05**	1,508**	2,596**	1,037**	0,0004ns
D X C	15	2642ns	605ns	0,02ns	57**	135ns	181**	0,0008*
G X D X C	15	4958,56**	901*	0,02ns	52**	239*	90ns	0,0006ns
Resíduo	96	2108	407	0	22	114	59	0
Total	143							
CV %		19,97	18,56	6	25,62	25,31	19,24	12,39
Média Geral		229,9	109	1,72	18	42	40	0,16

ns não significativo, \* significativo a 5% e \*\* significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.



**Tabela 6.** Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco de dois genótipos de milho avaliados sob efeito de doses crescentes do bioestimulante B em diferentes tempos de tratamento. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm<sup>2</sup>), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm<sup>2</sup>) e peso seco total (PST) (g).

FV	GL	Quadrado Médio						
		CTR	AST	DM	AS1	AS2	AS3	PST
Genótipos ( G )	1	267928,74**	16137,68**	0,82**	3504,54**	14973,8**	3639,21**	0,047**
Dose (D)	5	4126,23*	289,28ns	0,014**	55,69*	90,58ns	29,98ns	0,00022ns
Coleta (C)	3	631487,46**	68241,63**	2,36**	7871,82**	19280,93**	423,51**	0,0072**
G X D	5	3713,05*	298,42ns	0,018**	96,75**	18,96ns	47,95ns	0,00024ns
G X C	3	77092,15**	4338,95**	0,36**	1287,67**	3168,08**	1196,04**	0,0006ns
D X C	15	1712,68ns	192,17ns	0,003ns	24,74ns	84,61ns	49,17ns	0,00039ns
G X D X C	15	814,47ns	215,14ns	0,007ns	16,39ns	64,79ns	86,18*	0,0002ns
Resíduo	96	1540,9	266,9	0,004	22,92	61,02	45,79	0,0003
Total	143							
CV %		17,29	16,31	4,28	23,58	20,51	20,3	10,91
Média Geral		226,97	100,14	1,55	20,3	38,09	33,33	0,16

ns não significativo, \* significativo a 5% e \*\* significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste *F*.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

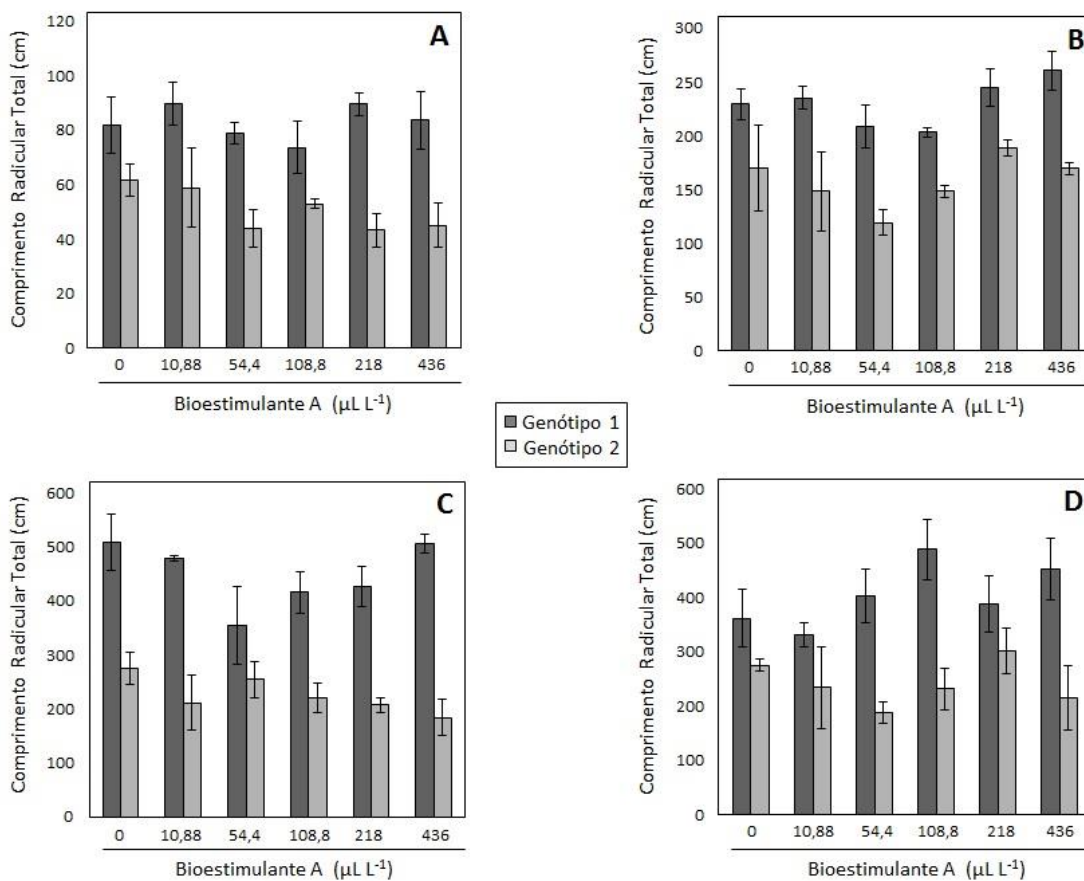
**Tabela 7.** Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco de dois genótipos de milho avaliados sob efeito de doses crescentes do bioestimulante C em diferentes tempos de tratamento. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm<sup>2</sup>), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm<sup>2</sup>) e peso seco total (PST) (g).

FV	GL	Quadrado Médio						
		CTR	AST	DM	AS1	AS2	AS3	PST
Genótipos ( G )	1	509439,06**	40654,32**	180,765**	6876,69**	28339,2**	4097,28**	0,062**
Dose (D)	5	24813,69**	3873,73**	3,88**	212,38**	1122,47**	144,67*	0,00039ns
Coleta (C)	3	809889,4**	89053,58**	658,321**	10741,6**	30943**	545,36**	0,0045**
G X D	5	13070,27**	1289*	3,091*	279,12**	229,63*	29,62ns	0,000064ns
G X C	3	106657,93**	6972,04**	8,491**	2306,04**	2541,81**	641,09**	0,00034ns
D X C	15	7722,06**	958,62**	1,991*	106,19*	323,77**	52,11ns	0,00026ns
G X D X C	15	6467,08*	988,88**	1,683ns	89,21ns	261,18**	80,33ns	0,00025ns
erro	96	2998,3	411,15	0,0097	51,51	98,37	51,77	0,00032
Total	143							
CV %		22,21	18,33	5,91	34,03	21,31	21,02	11,47
Média Geral		246,57	110,61	1,67	21,09	46,54	34,22	0,16

ns não significativo, \* significativo a 5% e \*\* significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste *F*.

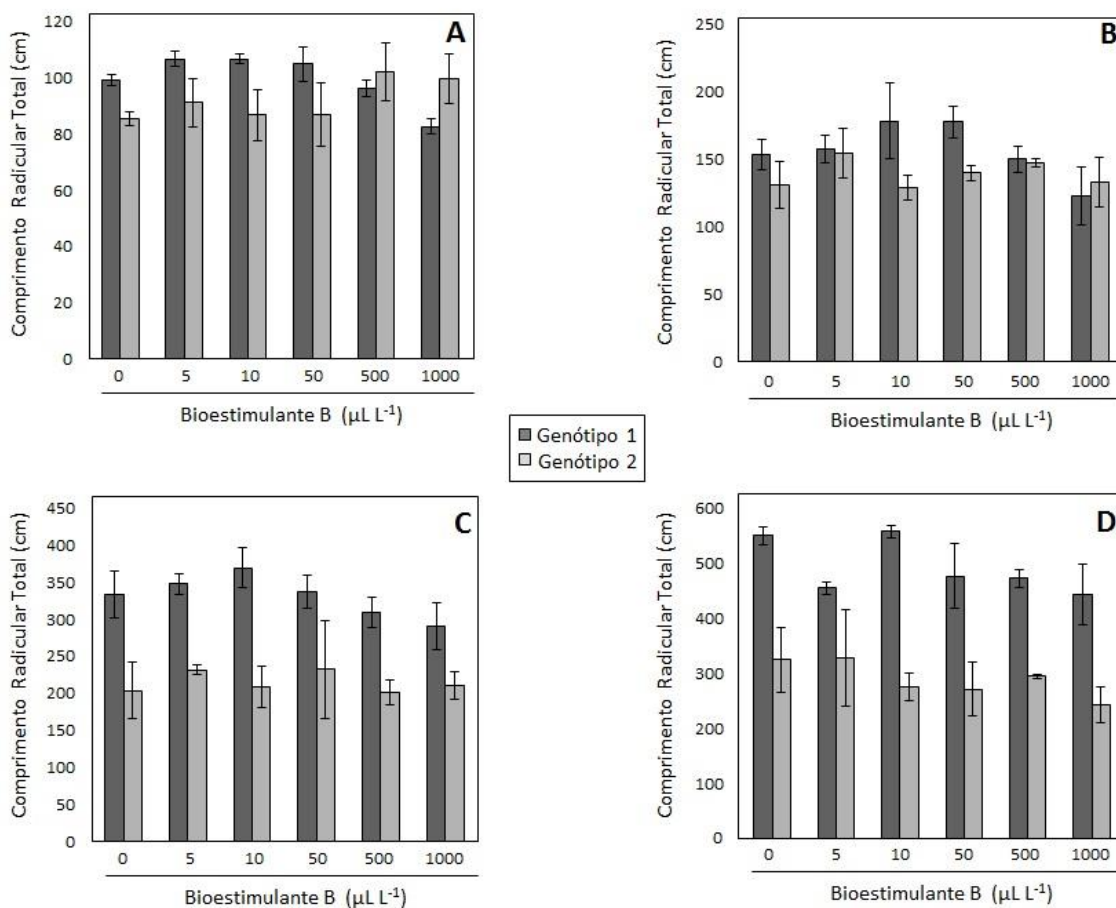
Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Figura 4.** Comprimento radicular total (cm) de dois genótipos de milho tratados com cinco doses de bioestimulante A e um controle negativo 3 (A), 6 (B), 10 (C) e 13 (D) dias após o início do tratamento. As barras de erro representam o desvio padrão de três repetições biológicas com três plântulas cada.



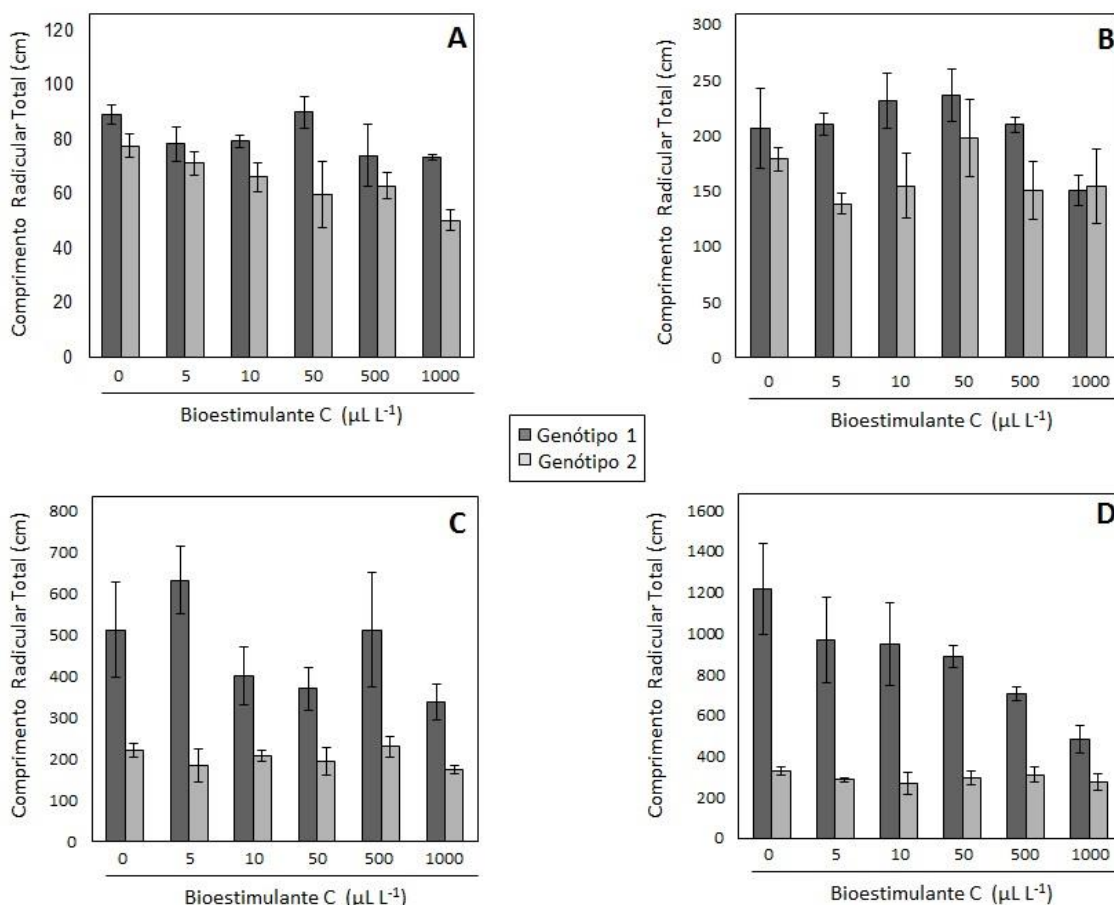
Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Figura 5.** Comprimento radicular total (cm) de dois genótipos de milho tratados com cinco doses de bioestimulante B e um controle negativo 3 (A), 6 (B), 10 (C) e 13 (D) dias após o início do tratamento. As barras de erro representam o desvio padrão de três repetições biológicas com três plântulas cada.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Figura 6.** Comprimento radicular total (cm) de dois genótipos de milho tratados com cinco doses de bioestimulante C e um controle negativo 3 (A), 6 (B), 10 (C) e 13 (D) dias após o início do tratamento. As barras de erro representam o desvio padrão de três repetições biológicas com três plântulas cada.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

## 4.2 Análise do Sistema Radicular de Plântulas de Milho sob Efeito de Bioestimulantes Utilizando a Metodologia de Solução Livre (Sistema *Floating*) – Ensaios 2, 3 e 4

### 4.2.1 Plântulas de milho em solução nutritiva de Hoagland no sistema solução livre (sistema *floating*) - Ensaio 2

A análise de variância do experimento com bioestimulante A (TAB. 8), mostrou que considerando dose (D) houve diferença significativa para quase todas as características, exceto, área de superfície entre 1,0 e 2,0 mm e peso seco total, enquanto para o bioestimulante B e C não houve diferença apenas para área de

superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total (TAB. 9 e 10). Considerando coleta (C), a diferença foi significativa para todas as características sob tratamento dos bioestimulantes A, B e C (TAB. 8, 9 e 10). A interação Dx C foi significativa para a maioria das características, com exceção de diâmetro médio, área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm, peso seco total para o bioestimulante A (TAB. 8), área de superfície entre 1,0 e 2,0 mm, área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total para o bioestimulante B (TAB. 9) e área de superfície total, área de superfície entre 0 e 1,0 mm, área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total para o bioestimulante C (TAB. 10). Enquanto os bioestimulantes A e C inibiram o comprimento radicular total (FIG. 7 e 9), o bioestimulante B aumentou o comprimento radicular após 10 dias de tratamento com as doses 5 e 10  $\mu\text{L L}^{-1}$  (FIG. 8). O coeficiente de variação foi baixo para todas as características analisadas nos experimentos com os bioestimulantes A, B e C (TAB. 8, 9 e 10), indicando confiabilidade dos dados.

Como base nos resultados do ensaio 1, esse foi realizado em sistema de solução livre (Sistema *floating*) usando solução de Hoagland meia força pH 5,65 (Liu *et al.*, 1998). Nesse sistema as raízes ficam em contato direto na solução nutritiva. Esse sistema havia sido utilizado por Ertani *et al.* (2009), Quaggiotti *et al.* (2004) e Canellas *et al.* (2008) para crescer plantas de milho com diferentes tipos de bioestimulantes. Nesse ensaio foi reduzido o tempo de coleta, sendo a última com 10 dias, uma vez que altas concentrações e tempo prolongado de exposição da raiz sob tratamento com bioestimulante poderiam causar efeito inibitório aos vegetais, conforme foi observado no ensaio 1. Apesar das alterações nos tempos de tratamento e o uso de doses intermediárias em relação ao ensaio 1, os resultados foram inconclusivos. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos, porém o bioestimulante B nas concentrações 5 e 10  $\mu\text{L L}^{-1}$  com 10 dias apresentou um efeito positivo em relação ao controle para comprimento radicular total.

**Tabela 8.** Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante A em diferentes tempos de tratamento. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm<sup>2</sup>), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm<sup>2</sup>) e peso seco total (PST) (g).

FV	GL	Quadrado Médio						
		CTR	AST	DM	AS1	AS2	AS3	PST
Dose (D)	3	14970,01**	1431,081837**	0,0302**	512,56**	86,27ns	241,47**	0,0005ns
Coleta(C)	2	857177,60**	68161,48477**	0,6215**	17447,83**	8498,47**	150,44**	0,0080**
D X C	6	10686,83*	1171,383714**	0,0033ns	302,94**	124,48*	12,86ns	0,0004ns
erro	36	3199,05	285,228829	0,0026	79,08	48,65	6,72	0,0003
Total	47							
CV %		12,57	11,03	4,42	16,36	13,74	8,09	8,82
Média Geral		449,96	153,08	1,158	54,37	50,78	32,04	0,18667

ns não significativo, \* significativo a 5% e \*\* significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste *F*.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Tabela 9.** Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante B em diferentes tempos de tratamento. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm<sup>2</sup>), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm<sup>2</sup>) e peso seco total (PST) (g).

FV	GL	Quadrado Médio						
		CTR	AST	DM	AS1	AS2	AS3	PST
Dose (D)	3	96136,61**	4764,29**	0,1419**	1891,68**	316,60**	5,28ns	0,00029ns
Coleta(C)	2	1517686,86**	126653,41**	1,1344**	36344,99**	11152,34**	376,33**	0,00978**
D X C	6	18128,62*	1293,22*	0,0184**	497,45**	86,81ns	6,60ns	0,00039ns
erro	36	6148,29	428,07	0,0026	138,24	54,39	7,69	0,00043
Total	47							
CV %		16,5	13,26	4,31	18,91	15,41	9,38	10,63
Média Geral		475,23	156,08	1,1729	62,16	47,86	29,58	0,1958

ns não significativo, \* significativo a 5% e \*\* significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste *F*.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2016

**Tabela 10.** Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante C em diferentes tempos de tratamento. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm<sup>2</sup>), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm<sup>2</sup>) e peso seco total (PST) (g).

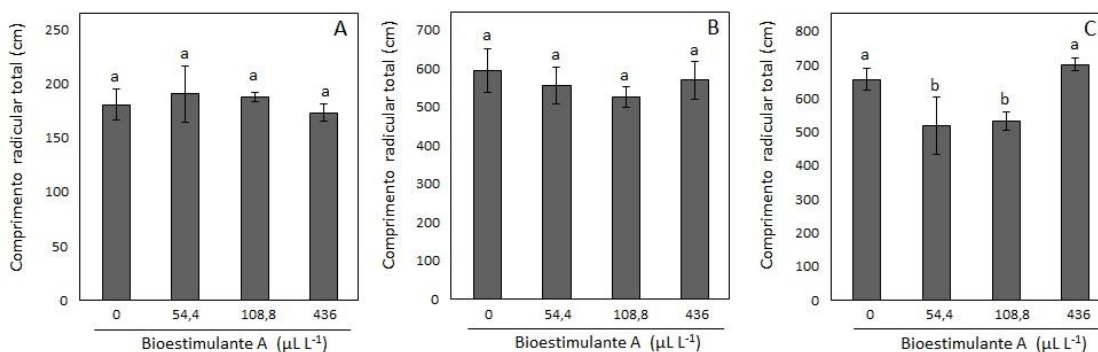
FV	GL	Quadrado Médio						
		CTR	AST	DM	AS1	AS2	AS3	PST
Dose (D)	3	48241,66**	3246,61**	0,0423**	696,50**	554,68**	14,23ns	0,00037ns
Coleta(C)	2	1679939,09**	151041,44**	0,9983**	41559,99**	11519,92**	1270,84**	0,01676**
D X C	6	9002,17*	699,54ns	0,0087*	174,41ns	117,22*	12,54ns	0,00018ns
erro	36	3485,26	307,87	0,0031	103,01	43,89	9,2	0,00035
Total	47							
CV %		12,89	11,65	4,74	16,41	14,03	11,96	9,26
Média Geral		457,96	150,59	1,169	61,86	47,21	25,36	0,20333

ns não significativo, \* significativo a 5% e \*\* significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste *F*.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2016

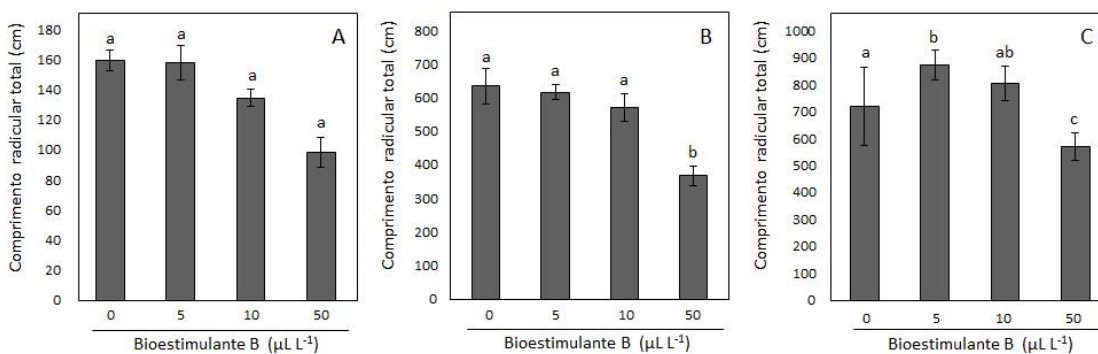


**Figura 7.** Comprimento radicular total (cm) de plântulas de milho tratadas com três doses de bioestimulante A e um controle negativo 3 (A), 7 (B) e 10 (C) após o início do tratamento. As barras de erro representam o desvio padrão. As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste LSD ( $p < 0,05$ ).



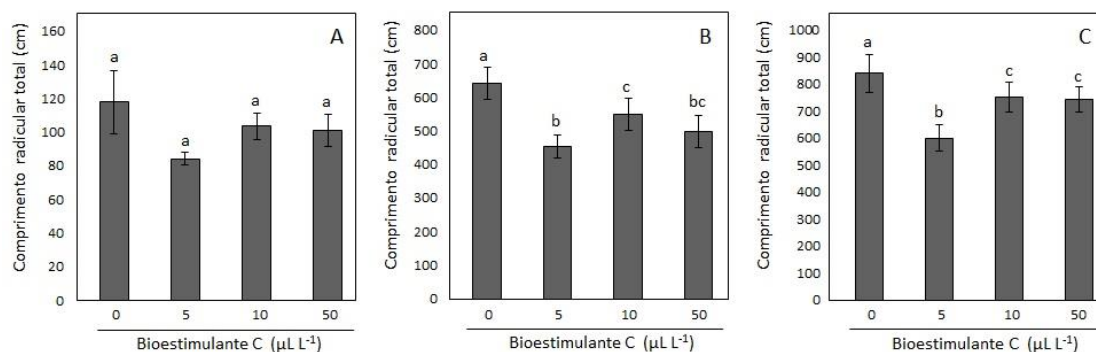
Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Figura 8** Comprimento radicular total (cm) de plântulas de milho tratadas com três doses de bioestimulante B e um controle negativo 3 (A), 7 (B) e 10 (C) após o início do tratamento. As barras de erro representam o desvio padrão. As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste LSD ( $p < 0,05$ ).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Figura 9.** Comprimento radicular total (cm) de plântulas de milho tratadas com três doses de bioestimulante C e um controle negativo 3 (A), 7 (B) e 10 (C) após o início do tratamento. As barras de erro representam o desvio padrão. As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste LSD ( $p < 0,05$ ).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

#### 4.2.2 Plântulas de milho aclimatadas em solução nutritiva de Hoagland por sete dias e sob efeito dos bioestimulantes por três dias - Ensaio 3

Os resultados da análise de variância apresentados nas TAB. 11, 12 e 13 mostraram que não houve diferença significativa para nenhuma das características analisadas, considerando os bioestimulantes A, B e C. Foi observada apenas uma tendência de aumento do crescimento radicular em resposta aos tratamentos com o bioestimulante.

Para determinar o período de início dos tratamentos nesse ensaio, foram considerados os trabalhos realizados por Ertani *et al.* (2009) e Schiavon *et al.* (2010) que ao testarem fitormônios em planta de milho não os adicionaram no meio nutritivo logo após o transplântio para a solução livre. As plântulas de milho passaram por um período de aclimação ao meio nutritivo antes do tratamento, pois longos períodos de exposição da raiz a bioestimulante podem ocasionar inibição do desenvolvimento vegetal. Ertani *et al.* (2009), Schiavon *et al.* (2010) e Quaggiotti *et al.* (2004) obtiveram efeito positivo ao avaliar o desenvolvimento de planta de milho submetido a tratamento com fitormônio com 14 dias de crescimento sendo o início do tratamento com 12 dias. Com base nessas informações, no ensaio 3 os bioestimulantes A, B e C foram colocados após sete dias de aclimação em solução nutritiva Hoagland meia força (LIU *et al.*, 1998) pH 5,65, e doses foram baseados na resposta positiva no ensaio 2

com 10 dias. Nesse ensaio, ao contrário do que havia sido observado nos ensaios 1 e 2, não foi verificada inibição, porém não houve resposta positiva.

Não houve diferença significativa para nenhuma das características avaliadas (TAB. 11, 12 e 13), porém foi observada uma tendência no aumento do comprimento total, área de superfície total, área de superfície entre 1,0 e 2,0 mm e peso seco total (FIG. 10, 11 e 12).

**Tabela 11.** Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante A. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm<sup>2</sup>), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm<sup>2</sup>) e peso seco total (PST) (g).

FV	GL	Quadrado Médio						
		CTR	AST	DM	AS1	AS2	AS3	PST
Dose (D)	2	963,21ns	99,07ns	0,003ns	14,22ns	43,98ns	6,64ns	0,000058ns
erro	9	7697,2	505,12	0,01	147,48	84,67	6,93	0,00025
Total	11							
CV %		17,31	11,17	7,92	23,33	18,77	3,03	7,13
Média Geral		506,84	201,12	1,30	52,05	49,02	86,84	0,22

ns não significativo.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Tabela 12.** Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante B. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm<sup>2</sup>), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm<sup>2</sup>) e peso seco total (PST) (g).

FV	GL	Quadrado Médio						
		CTR	AST	DM	AS1	AS2	AS3	PST
Dose (D)	2	4761,39ns	222,81ns	0,070ns	102,34ns	41,80ns	193,34ns	0,00052ns
erro	9	7932,48	528,19	0,042	184,77	99,79	72,03	0,00013
Total	11							
CV %		17,89	11,04	14,55	30,12	19,42	8,68	5,14
Média Geral		497,95	208,14	1,42	45,13	51,44	97,80	0,22

ns não significativo.

Fonte:Elaborado pelo autor, 2016.

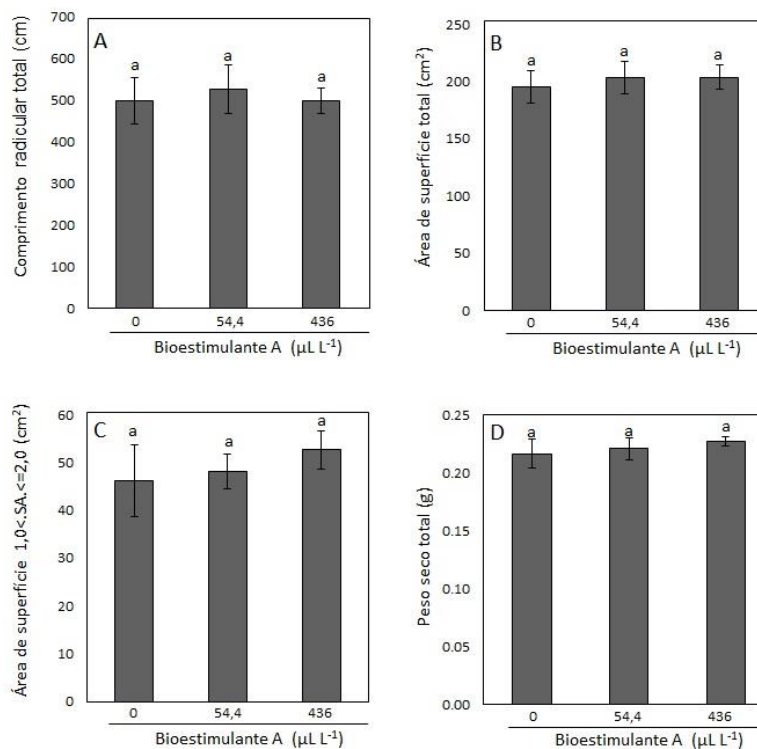
**Tabela 13.** Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante C. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm<sup>2</sup>), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm<sup>2</sup>) e peso seco total (PST) (g).

FV	GL	Quadrado Médio						
		CTR	AST	DM	AS1	AS2	AS3	PST
Dose (D)	2	2257,96ns	194,70ns	0,0021ns	78,98ns	26,61ns	6,00ns	0,00035ns
erro	9	4421,06	290,3	0,0124	60,58	57,8	4,23	0,0003
Total	11							
CV %		14,53	9,36	8,11	18,48	17,99	2,39	9,04
Média Geral		457,74	182,11	1,37	42,11	42,26	86,00	0,19

ns não significativo.

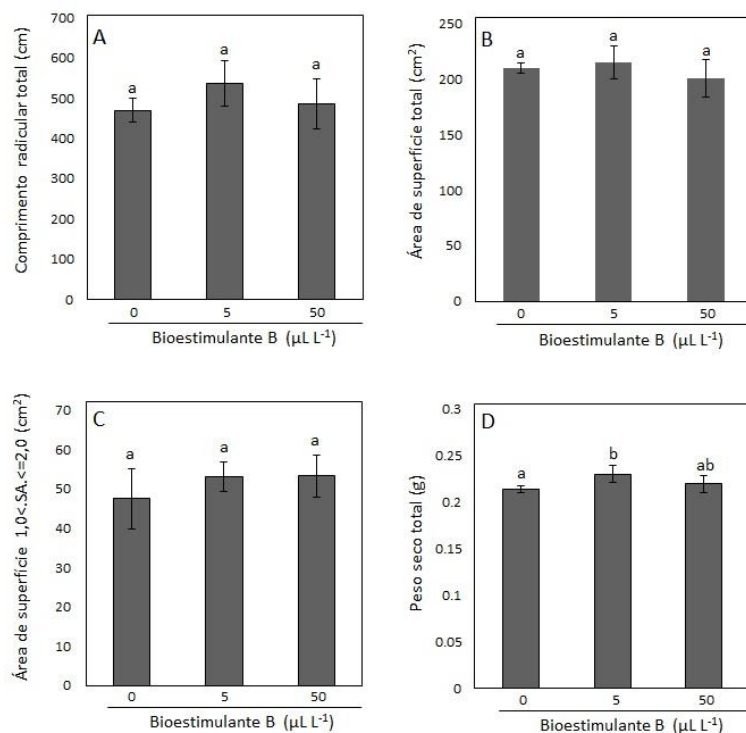
Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Figura 10.** Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho após três dias de tratamento com duas doses do bioestimulante A e controle negativo durante três dias de tratamento. (A) Comprimento radicular total (cm), (B) área de superfície total (cm<sup>2</sup>), (C) área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm (cm<sup>2</sup>), (D) peso seco total (g). As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste (LSD) ( $p < 0,05$ ).



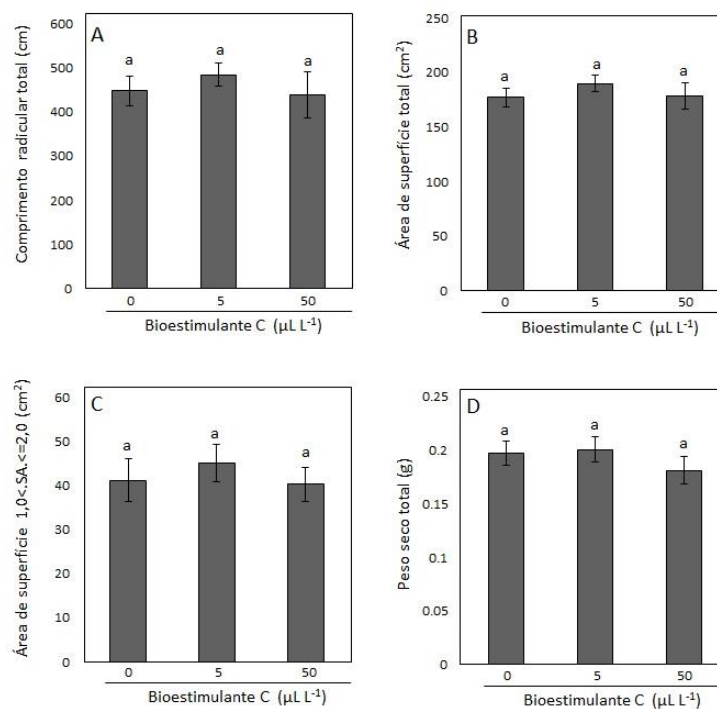
Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Figura 11.** Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho após três dias de tratamento com duas doses do bioestimulante B e controle negativo durante três dias de tratamento. (A) Comprimento radicular total (cm), (B) área de superfície total (cm<sup>2</sup>), (C) área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm (cm<sup>2</sup>), (D) peso seco total (g). As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste (LSD) ( $p < 0,05$ ).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Figura 12.** Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho após três dias de tratamento com duas doses do bioestimulante C e controle negativo. (A) Comprimento radicular total (cm), (B) área de superfície total (cm<sup>2</sup>), (C) área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm (cm<sup>2</sup>), (D) peso seco total (g). As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste (LSD) ( $p < 0,05$ ).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

#### 4.3.3 Plântulas de milho aclimatadas em solução nutritiva de Hoagland por sete dias e sob efeito dos bioestimulantes por três e sete dias - Ensaio 4

Na análise de variância, o coeficiente de variação foi baixo para todas as características analisadas no experimento com os bioestimulantes A, B e C (TAB. 14), indicando confiabilidade dos dados. A análise de variância mostrou que houve diferença significativa para as características diâmetro médio, área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total, considerando bioestimulante e para comprimento total da raiz, diâmetro médio, área de superfície entre 0 e 1,0 mm, área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total considerando coleta. A interação entre bioestimulante x coleta (BxC) foi significativa apenas para área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total. Considerando a coleta 1, três dias de tratamento, houve inibição do crescimento radicular sob tratamento dos bioestimulantes A, B e C (FIG. 13). No entanto, após uma semana de tratamento – coleta 2, foi observado um aumento da

área de superfície radicular total e da área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm e 2 e 4,5 mm, além de um aumento significativo no peso seco total (FIG. 14).

Na avaliação do sistema radicular com três dias de tratamento houve redução de algumas características radiculares para os três produtos, ao contrário do que havia sido observado no ensaio 3. Ademais se mantiveram com efeitos nulos em relação ao controle. Já na avaliação com sete dias de tratamento, os bioestimulantes A e C tiveram um efeito positivo significativo da área de superfície total (AST). Além disso, o produto A, também afetou significativamente a área de superfície de raízes entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) de raízes entre 2,0 e 4,5 mm (AS3), e todos os três bioestimulantes tiveram um efeito positivo no peso seco total.

Os tratamentos com os bioestimulantes à base de aminoácidos (B e C), principalmente o C, levaram a um aumento da área de superfície total e conseqüentemente houve um ganho significativo do peso seco sob uma dose baixa, sendo essa  $5,0 \mu\text{L L}^{-1}$  do produto. Os bioestimulantes à base de aminoácidos tendem a ser mais eficientes no desenvolvimento vegetal quando associados a nutrientes e aplicados em baixas concentrações (CASILLAS *et al.*, 1986). Em alface, por exemplo, há aumento da matéria seca de 5,2 a 10,8 % com a aplicação de 0,2 e 0,4 %, respectivamente de um bioestimulante comercial à base de aminoácidos (KOWALCZYK, *et al.*, 2008). Proteínas hidrolisadas, devido a um comportamento semelhante ao da auxina, aumentaram a taxa de alongamento do coleóptilo de milho quando comparado ao controle, além disso, esse bioestimulante teve efeito positivo nas raízes de tomate e na parte aérea de ervilhas (COLLA *et al.*, 2014). Os aminoácidos podem exercer múltiplos papéis como bioestimulantes no crescimento da planta, tendo efeitos diretos e indiretos (CALVO *et al.*, 2014; DU JARDIN, 2012 e HALPERN *et al.*, 2015). Os efeitos diretos estão relacionados com a assimilação de N, de enzimas do ciclo TCA, atividades hormonais, efeitos quelantes e antioxidantes e os indiretos estão relacionados com a nutrição e crescimento vegetal, através do aumento da biomassa e atividade de microrganismos, fertilidade e respiração do solo (DU JARDIN, 2015).

O bioestimulante A, à base de substâncias de substâncias húmicas teve maior efeito nas plantas de milho nas condições testadas. O processo do aumento do sistema radicular com uso de substâncias húmicas está diretamente ligado à ativação  $\text{H}^+$ -ATPase associada a um aumento na absorção de  $\text{NO}_3^-$  (FAÇANHA *et al.*, 2002),



facilitando assimilação de íons, aumentando a respiração celular e a produção de ATP nas células radiculares (FAÇANHA *et al.*, 2002; QUAGGIOTTI *et al.*, 2004; MUSCOLO *et al.*, 2007).

Foram observados efeitos positivos no crescimento radicular de tomate crescido em solução nutritiva com bioestimulantes comerciais à base de ácido húmico extraído de leonardita, especialmente com a dose de 10 mg/L (ADANI *et al.*, 1998), próxima à dose usada no ensaio 4 (20 mg/L). Também foram encontrados efeitos positivos no comprimento radicular de plantas de milho crescidas em solução nutritiva com adição de substâncias húmicas extraídas de carvões na dose 30 mg/L (SIEWERDT *et al.* 1999) e nas plantas de milho e café submetidos a tratamento com substâncias húmicas na concentração de 40 mg/L de ácido húmico (FAÇANHA *et al.*, 2002).

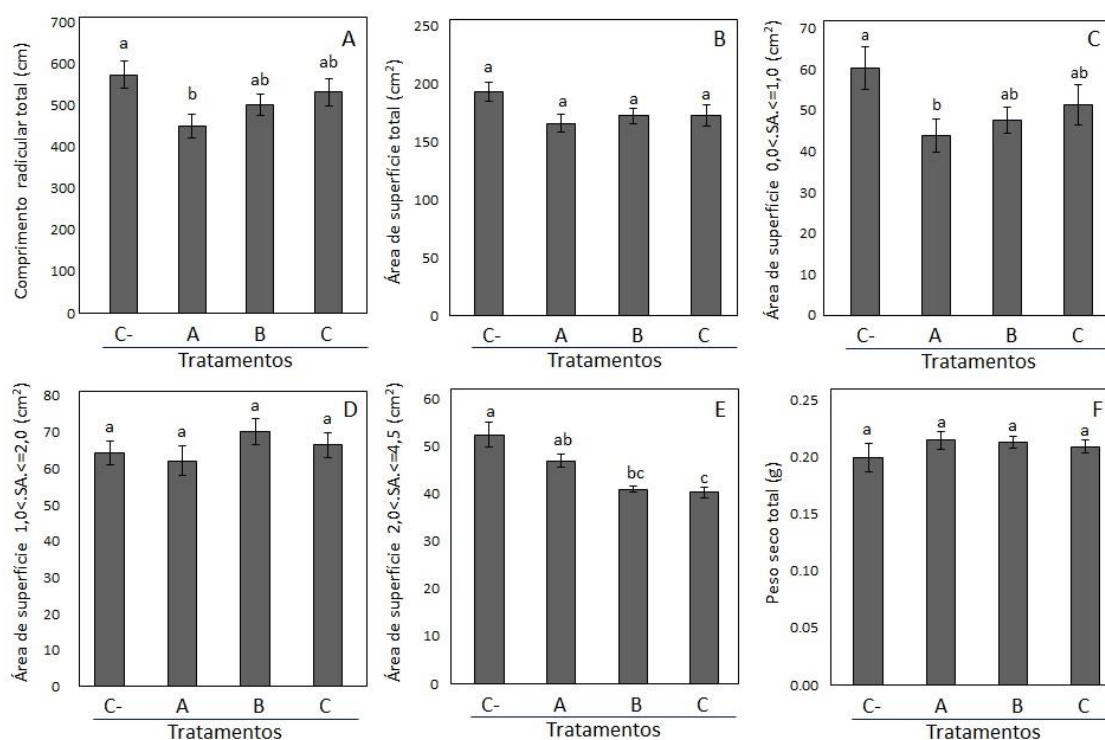
**Tabela 14.** Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito dos bioestimulantes A, B e C em dois tempos de tratamento. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm<sup>2</sup>), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm<sup>2</sup>) e peso seco total (PST) (g).

FV	GL	Quadrado Médio						
		CTR	AST	DM	AS1	AS2	AS3	PST
Bioestimulante (B)	3	7131,35ns	58,70ns	0,024**	123,33ns	153,35ns	91,54**	0,0028**
Coleta(C)	1	81936,58**	981,90ns	0,136**	1614,82**	196,71ns	1039,68**	0,0648**
B X C	3	11042,33ns	1396,96	0,001ns	229,75ns	126,03ns	78,23*	0,0017*
erro	24	5296,8	365,71	0,288	5207,95	107,77	2006,39	0,0887
Total	31							
CV %		12,88	10,56	5,3	17,73	15,17	11,05	8,04
Média Geral		565,05	181,10	1,05	57,93	68,44	39,49	0,2537

ns não significativo, \* significativo a 5% e \*\* significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste *F*

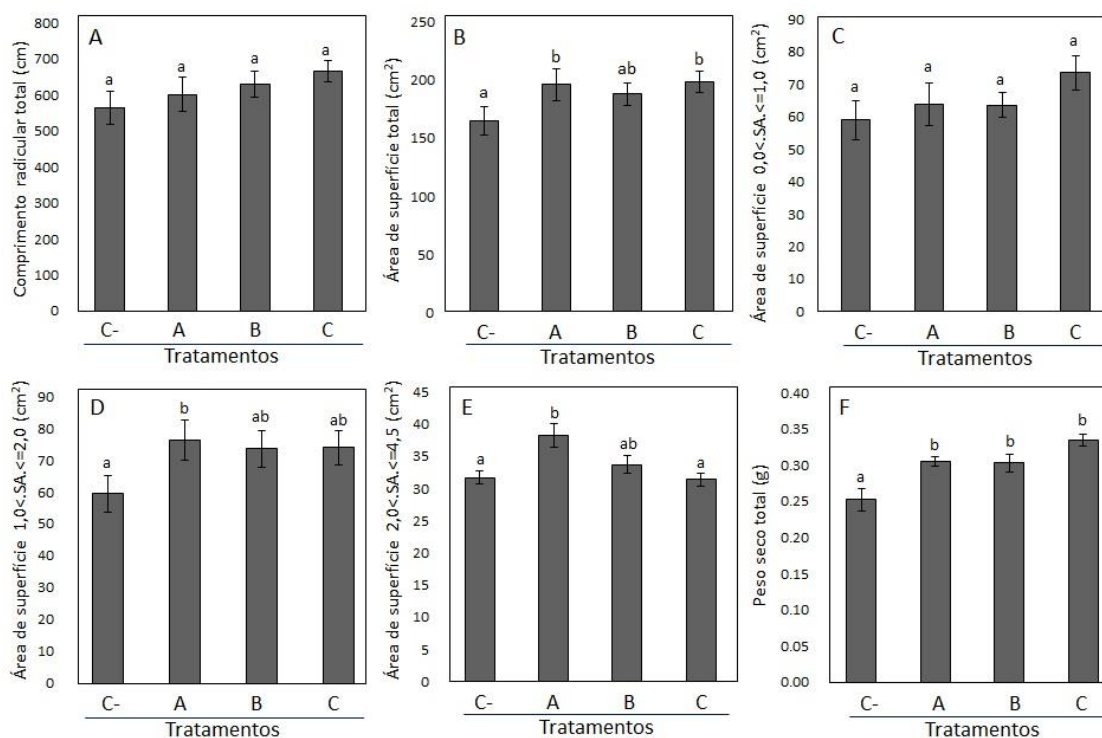
Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Figura 13.** Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho após três dias de tratamento com os bioestimulantes A ( $54,4 \mu\text{L L}^{-1}$ ), B ( $5,0 \mu\text{L L}^{-1}$ ) e C ( $5,0 \mu\text{L L}^{-1}$ ) e controle negativo (C-). (A) Comprimento radicular total (cm), (B) área de superfície total ( $\text{cm}^2$ ), (C) área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm ( $\text{cm}^2$ ), (D) área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm ( $\text{cm}^2$ ), (E) área de superfície de raízes com diâmetro entre 2 e 4,5 mm ( $\text{cm}^2$ ), (F) peso seco total (g). As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste (LSD) ( $p < 0,05$ ).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

**Figura 14.** Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho após sete dias de tratamento com os bioestimulantes A ( $54,4 \mu\text{L L}^{-1}$ ), B ( $5,0 \mu\text{L L}^{-1}$ ) e C ( $5,0 \mu\text{L L}^{-1}$ ) e controle negativo (C-). (A) Comprimento radicular total (cm), (B) área de superfície total ( $\text{cm}^2$ ), (C) área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm ( $\text{cm}^2$ ), (D) área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm ( $\text{cm}^2$ ), (E) área de superfície de raízes com diâmetro entre 2 e 4,5 mm ( $\text{cm}^2$ ), (F) peso seco total (g). As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste (LSD) ( $p < 0,05$ ).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

A adoção de tecnologias e produtos que tenham efeito bioestimulante são promissoras, pois esses produtos apresentam substâncias com efeito no enraizamento, como hormônios e ácidos orgânicos e/ou micronutrientes, mas que pouco se sabe sobre os mecanismos de ações dessas, tornando o desenvolvimento e, principalmente, a recomendação dos produtos totalmente empírica. O estabelecimento das condições de avaliação desses produtos é fundamental para se avançar na busca para o melhor entendimento dos mecanismos de ação dos bioestimulantes, que já se estende há décadas. Até hoje, muitas perguntas nessa esfera ainda não estão esclarecidas, principalmente quando se trata do local de atuação dos fitormônios exógenos nos órgãos dos vegetais. No entanto, pesquisas

mostram os benefícios dos bioestimulantes em diversas culturas, além disso, os dados apontam que o uso de bioestimulantes não substitui a adubação com fertilizantes convencionais, mas contribui para redução do uso dos mesmos. A inserção de produtos bioestimulantes na agricultura associado com manejo adequado do solo tem apresentado resultados expressivos no ganho de produtividade, que é um fator preponderante para agricultura, tendo em vista, uma população que cresce a cada dia. Dessa forma, esse trabalho contribuiu para avançar na busca de estratégias de sustentabilidade, buscando condições ideais para a utilização dos bioestimulantes através do desenvolvimento de metodologias adequadas.

## 5 CONCLUSÃO

Após o teste com diferentes genótipos, doses e tempos de tratamento em dois sistemas de crescimento de plantas, *pasta e floating*, foi possível concluir que a melhor condição de avaliação de plântulas de milho sob efeito de bioestimulantes à base de ácido húmico e aminoácidos foi realizar a aclimação das plantas durante sete dias em solução de Hoagland meia força (pH 5,65) pelo sistema *floating*, com adição de 54,4  $\mu\text{L L}^{-1}$ , 5,0  $\mu\text{L L}^{-1}$  e 5,0  $\mu\text{L L}^{-1}$  de bioestimulantes A, B e C, respectivamente, deixando as plantas no sistema por mais sete dias. Nessa condição, houve um aumento na área de superfície total da raiz, área de superfície de raízes com diâmetro entre 1-2 mm e 2-4,5 mm e peso seco total. O resultado desse trabalho permitirá o desenvolvimento de experimentos moleculares e fisiológicos que levarão a uma melhor compreensão da ação dos bioestimulantes.

## REFERÊNCIAS

- ADANI, F., *et al.* 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.
- ALBREGTS, E.E., *et al.* Effect of biostimulants on fruiting of strawberry. **Proc. Fla. State. Hon. Soc.** v. 101, p. 370-372, 1988.
- CALVO, P., NELSON, L., KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant Soil**, v. 383, n. 1-2, p. 3-41, 2014.
- CANELLAS, L.P., *et al.* Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiology**, v. 130, n. 4, p. 1951-1957, 2002.
- CANELLAS, L.P., *et al.* Humic acids crossinteractions with root and organic acids. **Annals of Applied Biology**, v. 153, n. 2, p. 157-166, 2008.
- CANELLAS, L.P., SANTOS, G.A. **Humosfera**: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. Campos dos Goytacazes, CCTA / UENF, 309 p. 2005.
- CASILLAS, V.J.C., *et al.* Análisis cuantitativo de la aplicación de cuatro bioestimulantes en el cultivo del rabano (*Raphanus sativus* L.). **Acta Agronomica**, v. 36, n. 32, p.185-195, 1986.
- CASTRO, P.R.C., *et al.* **Utilização de fosfitos e potencial de aplicação dos aminoácidos na agricultura tropical**. Piracicaba: ESALQ, DIBD, p. 71 (Série Produtor Rural, 38). 2008.
- COLLA, G., *et al.* Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. **Front. Plant Sci**, v. 5, n. 448, p. 10.3389, 2014.
- COLLA, G., *et al.* Effectiveness of a plant-derived protein Hydrolysate to improve crop performances under different growing conditions. **Acta Horticulturae**, v. 1009, p. 175-180, 2013.
- COLMAN, B. A., *et al.* Efeito da adição de inseticidas no tratamento de sementes de soja com bioestimulante. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 5, p. 45-48, 2013.
- COLODETE, C.M. Fluxo molecular e iônico das proteínas de transporte em membranas. **Biológicas & Saúde**, v. 3, n. 11, 2013.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Quarto Levantamento V. 3 - SAFRA 2015/16- N. 4 Janeiro de 2016. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_01\\_12\\_14\\_17\\_16\\_boletim\\_graos\\_janeiro\\_2016.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_01_12_14_17_16_boletim_graos_janeiro_2016.pdf). Acesso em: 16 de Janeiro de 2016.

DARIO, G.J.A., *et al.* Ação de bioestimulante no desempenho agrônômico de milho e feijão. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 13, n. 2, p. 119-129, 2014.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 3-14, 2015.

ELLIOTT, M.L., PREVATTE, M. Response of Tifdwarf Bermudagrass to Seaweed-derived Biostimulants. **HortTechnology**, v. 6, n. 3, p. 261-263, 1996.

ERTANI, A., *et al.* Biostimulant activity of two protein hydrolyzates in the growth and nitrogen metabolism of maize seedlings. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 172, n. 2, p. 237-244, 2009.

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

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, L.A., *et al.* Bioestimulante e fertilizante associados ao tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.2, p.80-89, 2007.

GONÇALVES, S.L., LYNCH, J.P. Raízes de plantas anuais: tolerância a estresses ambientais, eficiência na absorção de nutrientes e métodos para seleção de genótipos. p. 67, Documentos/ Embrapa Soja, ISSN : 2176-2937 ; n.357, 2014.

HALPERN, M., *et al.* Chapter Two -The Use of Biostimulants for Enhancing Nutrient Uptake. **Advances in Agronomy**, v. 130, p. 141-174, 2015.

HOCHHOLDINGER, F., *et al.* From weeds to crops: genetic analysis of root development in cereals. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 1, p. 42-48, 2004a.

HOCHHOLDINGER, F., *et al.* Genetic dissection of root formation in maize (*Zea mays*) reveals root type specific developmental programmes. **Annals of Botany**, v. 93, n. 4, p. 359-368, 2004b.

IVASHIKINA, N.V., SOKOLOV, O.A. Regulation of nitrate uptake and distribution in maize seedlings by nitrate, nitrite, ammonium and glutamate. **Plant Science**, v. 123, n. 1, p. 29-37, 1997.

JANNIN, L., *et al.* Microarray analysis of humic acid effects on *Brassica napus* growth: Involvement of N, C and S metabolisms. **Plant Soil**, v. 359, n. 1- 298, 2012.

KELTING, M., *et al.* Humate-based biostimulants do not consistently increase growth of container-grown Turkish hazelnut. **Journal of Environmental Horticulture**, v. 15, p. 197-199, 1997.

KLAHOLD, C.A., *et al.* Resposta da soja (*Glycine max* L. Merrill) à ação de bioestimulante. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 28, n. 2, p. 179, 2006.



KOWALCZYK, K., ZIELONY, T., GAJEWSKI, M. Effect of Aminoplant and Asahi on yield and quality of lettuce grown on rockwool. **Biostimulators in Modern Agriculture. General Aspects**” (H. Gawrońska, ed.). Wieś Jutra, Warszawa, p. 35-43, 2008.

LAICHE, A.J. Evaluation phosphorus fertilization and commercial biostimulants for producing cabbage. **Hort. Technology**, v.5, n.4, p.298-300, 1991.

LAMBAIS, G.R. **Aminoácidos como coadjuvantes da adubação foliar e do uso do glifosato na cultura de soja**. Piracicaba: ESALQ, 2011. 97 p. Dissertação. (Mestre em Ciências – Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Programa de Pós-Graduação da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2011.

LIMBERGER, P.A., GHELLER, J.A. Efeito da aplicação foliar de extrato de algas, aminoácidos e nutrientes via foliar na produtividade e qualidade de alface crespa. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 1, n. 1, 2012.

LIU C., *et al.* Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissue by phosphorus. **Plant Physiology**, v. 116, n. 1, p. 91-99, 1998.

LIU, X.Q., LEE, K.S. Effect of mixed amino acids on crop growth. **Agricultural Science**, p. 119-158, 2012.

LOSS, A., *et al.* Quantificação do carbono das substâncias húmicas em diferentes sistemas de uso do solo e épocas de avaliação. **Bragantia**, v. 69, n. 4, p. 913-922, 2010.

LUNELLI, N.P., KANASHIRO, S., TAVARES, R. Efeito de bioestimulante composto de cinetina, ácido indolbutírico e ácido giberélico em epífitas, visando a restauração florestal. **Hoehnea**, v. 42, n. 2, p. 337–344, 2015

MAGALHÃES, P.C *et al.* **Manual técnico para a cultura do milho no estado do Espírito Santo**, p. 15–33, 1996.

MAGNAVACA, R., GARDNER, C.O., CLARCK, R.B. Evaluation of maize inbred lines for aluminum tolerance in nutrient solution. *In*: GABELMAN, H. W.; LONGHMAN, B. C. (Eds). **Genetic aspects of plant mineral nutrition**. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht/Boston/Lancaster, p. 255-265, 1987.

MORAES, J.G.V. Biofertilizantes: **Identificação das barreiras regulatórias e propostas para viabilizar esse insumo agrícola**. São Paulo. EESP/FGV, 2015. 91 p. Dissertação. (Mestre em Agronegócio) – Programa de Pós-graduação da Escola de Economia de São Paulo. São Paulo, 2015.

MULLER, B., TOURAINÉ, B. Inhibition of NO<sub>3</sub> uptake by various phloem-translocated amino acids in soybean seedlings. **Journal of Experimental Botany**, v. 43, n. 5, p. 617-623, 1992.

MUSCOLO, A., *et al.* The auxin-like activity of humic substances is related to membrane interactions in carrot cell cultures. **Journal of Chemical Ecology**, v. 33, n. 1, p. 115-129, 2007.

NOGUEIRA, A.R.A., SOUZA, G.B. **Manual de Laboratório: Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos**, São Carlos, 334 p, 2005.

OLIVEIRA, F.A., *et al.* Interação entre salinidade e bioestimulante na cultura do feijão caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 5, p. 465–471, 2013.

ONO, E.O., RODRIGUES, J.D., SANTOS, S.O. Efeito de fitorreguladores sobre o desenvolvimento de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Carioca. **Revista Biociências**, Taubaté, v.5, n.1, p.7-13, 1999.

PAES, M.C.D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA- CNPMS, 2006. 6p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 75), 2006.

PICCOLO A. The supramolecular structure of humic substances: a novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. **Advances in Agronomy**, v. 75, p. 57-134, 2002.

PINHEIRO, G.L. **Crescimento e nutrição de clone de eucalipto em função da aplicação de C-ácidos húmicos**. Lavras: UFLA, 2009. 55 p. Dissertação. (Mestrado em Ciência do Solo) Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

QUAGGIOTTI, S., *et al.* Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). **Journal of Experimental Botany**. v. 55, n. 398, p. 803-813, 2004.

REUSA, R., GIRARDI, E., CALÉMMA, V. Humic acids from coal: production, characterization and utilization. In: SENESI, N., MIANO, T.M. (Ed.). **Humic substances in the global environment and implications on human health**. Oxford: Elsevier, p. 1225-1244, 1994.

RUSSO, R.O., BERLYN, G.P. The use of organic biostimulants to help low input sustainable agriculture. **Agronomy for Sustainable Development**, v.1, n.2, p.19-42, 1990.

SANTOS, V.M., *et al.* Uso de bioestimulantes no crescimento de plantas de *Zea mays* L. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 3, p. 307-318, 2014.

SCHIAVON, M., *et al.* High molecular size humic substances enhance phenylpropanoid metabolism in maize (*Zea mays* L.). **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, n. 6, p. 662-669, 2010.

SIEWERDT, L., *et al.* Crescimento da parte aérea e do sistema radicular do milho cultivado em solução nutritiva adicionada de substâncias húmicas. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 5, n. 2, 1999.

SILVA, A.C., *et al.* Promoção do crescimento radicular de plântulas de tomateiro por substâncias húmicas isoladas de turfeiras. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 5, p. 1609-1617, 2011.

SILVA, L.C.F., *et al.* **Agricultura bioestimulada**. Cultivar Grandes Culturas, v. XIV, p. 34-35, 2012.

SOUSA, S. M., *et al.* A role for root morphology and related candidate genes in P acquisition efficiency in maize. **Functional Plant Biology**, v. 39, n. 11, p. 925-935, 2012.

SWARUP, K., *et al.* The auxin influx carrier LAX3 promotes lateral root emergence. **Nature Cell Biology**, v. 10, n. 8, p. 946, 2008.

TANAKA, M. T., *et al.* Efeito da aplicação foliar de biofertilizantes, bioestimulantes e micronutrientes na cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 25, n. 2, p. 315-321, 2008.

TECCHIO, M. A., *et al.* Uso de bioestimulante na videira 'Niagara Rosada'. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 6, p. 1236-1240, 2006.

VASCONCELOS, A. C. F. D., *et al.* Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. **Scientia Agricola**, v.66, n.3, p.396, 2009.

ZANDONADI, D.B., CANELLAS, L.P., FAÇANHA, A.R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. **Planta**, v. 225, n. 6, p. 1583-1595, 2007.

ZANDONADI, D.B., *et al.* Ação da matéria orgânica e suas frações sobre a fisiologia de hortaliças. **Hortic. Bras**, v. 32, n. 1, 2014.