Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Uso de bioestimulantes nas culturas de milho e de soja

Ana Carolina Feitosa de Vasconcelos

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Agronomia.
Área de concentração: Solos e Nutrição de Plantas

Piracicaba
2006

Ana Carolina Feitosa de Vasconcelos
Engenheira Agrícola

Uso de bioestimulantes nas culturas de milho e de soja

Orientador:
Prof. Dr. **JORGE DE CASTRO KIEHL**

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Agronomia. Área de concentração: Solos e
Nutrição de Plantas**

Piracicaba
2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Vasconcelos, Ana Carolina Feitosa

Uso de bioestimulantes nas culturas de milho e de soja / Ana Carolina Feitosa Vasconcelos. - - Piracicaba, 2006.
111 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.
Bibliografia.

1. Bioestimulantes 2. Melhoramento do solo 3. Milho 4. Nutrientes 5. Soja
I. Título

CDD 633.15

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha família, por seu contínuo amor, apoio e compreensão em cada etapa de minha vida.

Agradecimentos

A Deus, por minha existência, por me guiar e me fortalecer em todos os momentos de minha vida.

Ao Dr. Jorge de Castro Kiehl, Professor Titular da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, do Departamento de Ciência do Solo, pela orientação e amizade.

Ao Dr. Erik H. Ervin, Assistant Professor do Crop and Soil Environmental Sciences Department, da Virginia Polytechnic Institute and State University, pela orientação e atenção.

Ao Dr. Xunzhong Zhang, Research Scientist do Crop and Soil Environmental Sciences Department, da Virginia Polytechnic Institute and State University, pela orientação, assistência e, sobretudo, pela amizade.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo, sua comissão de coordenação, seus professores e funcionários, pelas oportunidades, ensinamentos e ajuda.

Ao Crop and Soil Environmental Sciences Department da Virginia Polytechnic Institute and State University, sua comissão de administração, professores e funcionários, pela receptividade, atenção e apoio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão das bolsas de estudos no Brasil e nos Estados Unidos.

Às empresas DAYMSA, LBE Biotecnologia e PROVASO pelas informações técnicas, assistência e doação dos produtos utilizados neste estudo, e à empresa PIONEER sementes, pela doação das sementes usadas neste trabalho.

Aos colegas do curso de pós-graduação em Ciência do Solo, pelas dicas, convivência e auxílios prestados.

Aos amigos do Crop and Soil Environmental Sciences Department, da Virginia Polytechnic Institute and State University, pelos inúmeros momentos compartilhados em clima de muita amizade e companheirismo.

À Dr.^a Lúcia Helena Garófalo Chaves, Professora Titular da Universidade Federal de Campina Grande, do Departamento de Engenharia Agrícola, pela amizade, carinho, orientação e incentivo ao longo de minha vida acadêmica.

Ao Dr. José Antônio Portella, pesquisador da EMBRAPA Trigo, pela amizade, incentivo e revisão do texto.

Ao casal Gustavo Henrique e Anamaria Duarte, por terem acreditado que essa “aventura” daria certo e terem investido nela junto comigo.

Às amigas Anamaria Duarte e Xiang Xue, pela companhia diária em Piracicaba e em Blacksburg, respectivamente.

À amiga Luciana Cunha, por me acolher em sua família nos momentos mais decisivos desta jornada.

À amiga e “irmã científica” Eloise Viana, pela alegre convivência diária.

Às amigas Lurdes Gandra, Maria Bertolla e Débora Claudiano, pelo cuidado e carinho em todos os momentos.

Ao amigo especial Beshr, por tudo...

A todos, que de alguma forma contribuíram para a realização desta etapa de minha vida.

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	6
RESUMO	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO.....	10
Referências	13
2. EFEITO DE BIOESTIMULANTES NA NUTRIÇÃO DE PLANTAS DE MILHO E DE SOJA.....	15
Resumo	15
Abstract.....	16
2.1. Introdução.....	17
2.2 Revisão Bibliográfica	18
2.2.1 Uso de substâncias húmicas na agricultura	18
2.2.2 Uso de Bioestimulantes na Agricultura.....	21
2.3 Material e Métodos.....	23
2.4 Resultados e Discussão.....	27
2.5 Conclusões.....	46
Referências	46
3. EFEITO DE BIOESTIMULANTES EM PLANTAS DE MILHO E DE SOJA SOB ESTRESSE HÍDRICO	50
Resumo	50
Abstract.....	51
3.1 Introdução.....	52
3.2 Revisão Bibliográfica	54
3.2.1 Uso de bioestimulantes em plantas.....	54
3.2.2 Estresse Hídrico nas Plantas	56
3.2.3 Espécies de Oxigênio Reativas e Estresse Hídrico.....	57
3.2.4 Espécies Reativas de Oxigênio e Fotossíntese	60
3.3 Material e métodos	61
3.4 Resultados e Discussão.....	67
3.4.1 Conteúdo de Auxina nos Produtos	67

3.4.2 Atividades do superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) em plantas de milho e de soja antes da aplicação dos tratamentos	67
3.4.3 Eficiência Fotoquímica.....	70
3.4.4 Produção de Matéria Seca e Altura de Plantas	71
3.4.5 Teor de proteínas	72
3.5 Conclusões.....	73
Referências	74
APÊNDICE	79

RESUMO

Uso de bioestimulantes nas culturas de milho e de soja

A matéria orgânica é a principal responsável pela boa produtividade das culturas por possibilitar melhorias nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo. Os ácidos húmicos presentes na matéria orgânica têm sido estudados uma vez que as plantas apresentam respostas às suas aplicações no solo ou nas folhas. Muitos produtos comerciais compostos por substâncias húmicas têm sua origem a partir da mistura de adubos minerais com o produto resultante da decomposição de materiais orgânicos. Os bioestimulantes têm sido amplamente comercializados por apresentarem respostas no incremento da produtividade das culturas, principalmente em regiões onde as plantas estão sendo cultivadas em ambientes estressantes. Estes produtos possibilitam aumento na absorção de nutrientes e de água pelas plantas, bem como influenciam a atividade hormonal das plantas. Alguns estudos mostram resultados controversos sobre o uso de bioestimulantes nas plantas, sendo necessárias, portanto, novas pesquisas para melhor avaliação dos efeitos destes produtos na agricultura. Alguns deles mostram que a aplicação de bioestimulantes aumenta a atividade antioxidante na planta e, conseqüentemente, melhora seu sistema de defesa contra os estresses abióticos. Com base nestes fatos, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de diferentes bioestimulantes aplicados em diferentes doses em plantas de milho e de soja no conteúdo de nutrientes, na produção de matéria seca e nos níveis de enzimas antioxidantes nas plantas.

Palavras-chave: nutrientes, bioestimulantes, *Zea mays*, *Glycine max*

ABSTRACT

Biostimulants sources in maize and soybean

Organic matter is the main source for high crop productivity since it improves chemical, physical and biological properties of the soil. Humic acids of the organic matter have been studied for many scientists. Plants have shown some improvements in their growth when they are subjected to applications of humic acids in the soil as well as via foliar. Many commercial products have humic acids in their compositions. They have been commercialized because they have increased crop production, especially when plants are subjected to severe environment. These products improve nutrient and water uptake, as well as they influence hormonal activities in plants. Some researches have shown application of biostimulants increases antioxidant activity in plants. So, they enhance defense system against abiotic stresses. But there are some studies showing that biostimulants have not caused any significant differences in plant growth. The aim of this research was evaluate biostimulants sources applied in different doses in maize and soybean in nutrient content as well as in the antioxidant enzymes levels in the plants.

Key words: nutrients, biostimulants, *Zea mays*, *Glycine max*

1. INTRODUÇÃO

A matéria orgânica do solo representa um grande número de materiais de origem animal e vegetal em vários estádios de decomposição. Sob o ponto de vista químico, é toda substância que apresenta na sua composição o carbono tetravalente, tendo as suas quatro ligações completadas por carbono, hidrogênio, nitrogênio, enxofre ou outros elementos; isso significa que a matéria orgânica do solo inclui microrganismos vivos e mortos e substâncias orgânicas microbiologicamente e/ou quimicamente alteradas (SILVA et al., 2000).

É sabido que os solos que contêm ampla quantidade de matéria orgânica são mais produtivos do que solos arenosos em condições naturais. A matéria orgânica pode aumentar a capacidade de armazenamento de água do solo, a capacidade de troca catiônica (CTC) e a atividade microbiana, bem como melhorar outras propriedades do solo (STEVENSON, 1982).

Os nutrientes são encontrados nos compostos orgânicos em quantidades equivalentes às observadas nos fertilizantes inorgânicos, mas a solubilidade e liberação destes nutrientes nos fertilizantes ocorrem de maneira mais rápida, o que às vezes se torna uma desvantagem porque pode ocasionar perdas por lixiviação ou volatilização dos mesmos (KIEHL, 1985).

As tentativas para caracterização das substâncias húmicas começaram em 1786, quando foi extraída uma substância marrom do solo pelo uso de soluções alcalinas. Pela adição de ácido sulfúrico a este extrato, foi obtida uma substância de coloração variando de marrom a preta, denominada ácido húmico (BROADBENT, 1964). Entretanto, o conceito estrutural mais aceito considera que as substâncias húmicas são resultantes da lignina que, ao ser decomposta pelos microrganismos, é separada em ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Recentemente, os cientistas começaram a estudar componentes específicos da matéria orgânica do solo para determinar sua influência no desenvolvimento da planta (MACCARTHY et al., 1990). O efeito positivo das substâncias húmicas no crescimento de inúmeras gramíneas tem sido amplamente estudado (CHEN e AVIAD, 1990). DIXIT e KISHORE (1967), citado por Cooper et al. (1998), relataram aumento na germinação em milho, cevada e trigo tratados com ácidos húmicos. Em estudo realizado com a gramínea *Festuca scabrella*, foi observado um aumento na absorção de nitrogênio em resposta à aplicação de substâncias húmicas extraídas de

três solos, enquanto que não foram observados aumentos na absorção de fósforo, potássio, cálcio, magnésio e sódio pelas plantas (DORMAAR, 1975).

O efeito da aplicação foliar de substâncias húmicas em trigo foi investigado por Delfine et al. (2005), os quais não observaram aumento significativo na produção de grãos e no teor de proteínas.

Muitos produtos comerciais compostos por substâncias húmicas estão disponíveis no mundo inteiro, e a maioria deles é originada da mistura de adubos minerais com o produto resultante da decomposição de materiais orgânicos. Neste contexto, tem sido enfatizado o uso de bioestimulantes, que são produtos que contêm princípio ativo ou agente orgânico isento de substâncias agrotóxicas, capaz de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, elevando a sua produtividade podendo ser levado em conta o seu valor hormonal ou estimulante (KELTING, 1997).

Os bioestimulantes promovem o desenvolvimento da planta e têm sido usados em muitas culturas. Estes produtos referem-se a misturas de reguladores vegetais com outros compostos de natureza bioquímica diferentes, tais como: aminoácidos, vitaminas, algas marinhas, micronutrientes e ácido ascórbico (VIEIRA, 2001).

A aplicação de bioestimulantes visando aprimorar os padrões de produtividade tem apresentado resultados significativos, principalmente em regiões onde as culturas já atingiram um nível elevado de tecnologia e manejo (CASTRO, 1980). As plantas desenvolvem-se bem quando o ambiente é favorável e, sob estas condições, os efeitos dos bioestimulantes podem não ser facilmente identificados. Contudo, quando as plantas estão sob estresse e são tratadas com bioestimulantes, elas apresentam melhor desenvolvimento por haver uma melhora em seu sistema de defesa devido ao incremento nos níveis de antioxidantes na planta (KARNOK, 2000).

O uso destes produtos tem sido crescente na agricultura por aumentarem a absorção de água e nutrientes pelas plantas, bem como sua resistência aos estresses hídricos e aos efeitos residuais de herbicidas no solo (RUSSO e BERLIN, 1992). Muitos dos efeitos benéficos dos bioestimulantes são baseados na sua habilidade de influenciar a atividade hormonal das plantas, que é responsável por regular o desenvolvimento normal da planta bem como as respostas ao ambiente onde se encontram (LONG, 2006).

Csinzinszky (1990) afirma que devido ao conteúdo de citocinina presente nos bioestimulantes, a aplicação destes produtos pode ser benéfica para as plantas em períodos de

estresse, pois, de acordo com sua teoria, a produção interna de citocinina pode ser limitada durante o período de stress ao qual a planta está submetida. Além da citocinina, muitos compostos orgânicos são conhecidos por terem atividade auxínica, e assim, estimularem o crescimento radicular, uma vez que as raízes apresentam alta sensibilidade à presença de auxina (O'DONNELL, 1973).

Os estudos envolvendo fisiologia vegetal responsabilizam a presença de certas substâncias nos bioestimulantes, tais como os ácidos húmicos e extrato de algas marinhas, pelo aumento na resistência e na adaptação das plantas às condições de estresse (ZHANG et al., 1997; ZHANG e ERVIN, 2003). Quando as plantas estão sob estresse, os radicais livres ou espécies reativas de oxigênio danificam as células das plantas. Os antioxidantes suprimem a toxicidade dos radicais livres, permitindo maior desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea. Alguns estudos mostram que a aplicação de bioestimulantes aumenta a atividade antioxidante na planta e, consequentemente, melhora seu sistema de defesa contra os estresses abióticos (HAMZA e SUGGARS, 2001).

Apesar de já terem sido feitos alguns estudos utilizando os bioestimulantes em diferentes culturas, os resultados obtidos até agora têm sido controversos, sendo necessárias, portanto, novas pesquisas para melhor avaliação dos efeitos destes produtos na agricultura, uma vez que seu uso tem sido propagado em várias regiões do mundo.

Neste contexto, têm-se como hipóteses que a aplicação dos bioestimulantes estudados nesta pesquisa pode incrementar o conteúdo de nutrientes nas plantas de milho e de soja, bem como aumentar as atividades enzimáticas das plantas quando elas se encontram em estresse hídrico, proporcionando melhor desenvolvimento delas.

Com base nestes fatos, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de alguns bioestimulantes aplicados em diferentes doses em plantas de milho e de soja, no acúmulo de nutrientes, nos níveis de enzimas antioxidantes e no desenvolvimento das plantas.

No primeiro capítulo estão descritos os experimentos conduzidos na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo, no período de março a junho de 2005, que objetivaram estudar o efeito dos produtos no acúmulo de nutrientes nas plantas submetidas à presença e à ausência de adubação mineral. O segundo capítulo descreve os experimentos realizados no período de outubro a dezembro de 2005 na Virginia Polytechnic

Institute and State University, EUA, onde foram avaliados os incrementos das enzimas antioxidantes nas plantas submetidas às condições de estresse hídrico.

Referências

- BROADBENT, F.E. The Characterization of Soil Humus. In: GILMOUR; C.M., ALLEN, O.N. (Ed.). **Microbiology and Soil Fertility**, Oregon,. v.1 , p. 59-75, 1964.
- CASTRO, P.R.C. **Efeitos de reguladores de crescimento em soja (*Glycine max* (L) Merrill cv. Davis)**. 1980. 174 p. Tese (Livre Docência) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1980.
- CHEN,Y.; AVIAD,T. Effects of humic substances on plant growth. In: MacCARTHY, (Ed.). **Humic substances in soil and crop science: selected readings**. Madison: SSSA, 1990. p.161-186.
- CSINZINSZKY, A.A. Response of two bell peppers (*Capsicum annum* L.) cultivars to foliar and soil-applied biostimulants. **Soil and Crop Science Society Florida Proceedings** The Hague, v. 49, p.199-203, 1990.
- COOPER, R.J.; LIU, C.; FISCHER, D.S. Influence of humic substances on rooting and nutrient content of creeping bentgrass. **Crop Science**, Madison, v.38, p.1639-1644, 1998.
- DELFINE, S.; TOGNETTI, R.; DESIDERIO, E.; ALVINO, A. Effects of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. **Agronomy for Sustainable Development**, Versailles v.25, n .1, p.183-191, 2005.
- DORMAAR, J.F. Effects of humic substances from Chernozemic Ah horizons on nutrient uptake by *Phaseolus vulgaris* and *Festuca scabrella*. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 55, p.11-118, 1975.
- KARNOK, K.J. Promises, promises: can biostimulants deliver? **Golf Course Management Golf Course Management**, Blacksburg, v. 68, p. 67-71, 2000.
- KELTING, M.P. **Effects of soil amendments and biostimulants on the post-transplant growth of landscape trees**. 1997. 58 p. Thesis (PhD) - Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, 1997.
- KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo: Ceres, 1985. 429 p.
- LONG, E. **The importance of biostimulants in turfgrass management**. Disponível em: <<http://www.golfenviro.com/Article%20Archive/Biostimulants-Roots.htm>>. Acesso em: 03 set. 2006.

MacCARTHY, P.; MALCOLM, R.L.; CLAPP, C.E.; BLOOM, P.R. An introduction to soil humic substances. In: MacCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil and crop science: Selected readings**. Madison: SSSA, 1990. p.1-12.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA. 2002. 626p.

O'DONNELL, R.W. The auxin-like effects of humic preparations from leonardite. **Soil Science**, New Brunswick, v.116, n.2, p.106-112, 1973.

RUSSO, R.O.; BERLYN, G.P. Vitamin-humic-algal root biostimulant increases yield of green bean. **Hortscience**, St. Joseph, v. 27, n.7, p. 847, 1992.

SILVA, L.S., CAMARGO, F.A.O.; CERETTA, C.A. Composição da fase sólida orgânica do solo. In: MEURER, E.J. (Ed.). **Fundamentos de química do solo**. Porto Alegre: Genesis, 2000. p.45-61.

VIEIRA, E.L. **Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja (*Glycine Max. (L) Merrill*), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris L.*) e arroz (*Oryza sativa L.*)**. 2001. 122p. Tese (Doutorado em Agronomia, na área de Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

ZHANG, H.Q.; HARTGE, K.H.; RINGE, H. Effectiveness of organic matter incorporation in reducing soil compactibility. **Soil Science American Journal**, Madison, v.61, p. 239-245, 1997.

ZHANG, X.; ERVIN, E.H. Physiological effects of liquid applications of a seaweed extract and a humic acid on creeping bentgrass. **Journal of The American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.128, n.4, p. 492-496, 2003.

2. EFEITO DE BIOESTIMULANTES NA NUTRIÇÃO DE PLANTAS DE MILHO E DE SOJA

Resumo

Efeito de bioestimulantes na nutrição de plantas de milho e de soja

As substâncias húmicas presentes em bioestimulantes têm efeito estimulante sobre o crescimento vegetal devido à habilidade dos ácidos húmicos atuarem como reserva de nutrientes, por meio da alta capacidade de troca catiônica (CTC) e da formação de complexos solúveis em água com íons metálicos, como o ferro, o que favorece a absorção desses íons pelas raízes. Os bioestimulantes beneficiam o crescimento das plantas por conterem produtos naturais como a citocinina e ácidos húmicos em sua composição. A produção e o uso de vários produtos comerciais contendo substâncias húmicas têm aumentado, e a atribuição de suas propriedades na melhoria do desenvolvimento vegetal apresenta controvérsias, tornando imprescindível uma investigação científica para comprovar os seus efeitos na absorção de nutrientes pelas plantas. Com base nestes fatos, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de alguns bioestimulantes comerciais, aplicados em diferentes doses e na ausência e na presença de adubação mineral, no aumento dos teores de nutrientes de plantas. O experimento foi instalado em casa de vegetação do departamento de Ciência do Solo da ESALQ/USP utilizando milho e soja como plantas-teste para avaliação dos bioestimulantes Brotax Solo®, Naturvital®, PT4-O® e Brotax-5®. O experimento foi conduzido em Piracicaba, SP, em vasos de três litros onde foram acondicionadas amostras da camada 0-20 cm de um Neossolo Quartzarênico do município de Piracicaba, SP. Amostras do solo foram submetidas à calagem e incubadas por 20 dias. Após esse período, as terras receberam adubo mineral nos tratamentos específicos. As doses dos produtos utilizados, em L ha⁻¹, foram: Brotax Solo®: 0; 150 e 300; Naturvital®: 0, 25 e 50; PT4-O®: 0; 0.5 e 1; Brotax-5®: 0; 8 e 16; correspondentes ao controle, à dose recomendada pelo fabricante e ao dobro desta, respectivamente. Os produtos foram diluídos em água e aplicados ao solo vinte e um dias depois da semeadura. Dois meses após a semeadura, as plantas foram colhidas, secadas, pesadas e analisadas quanto aos teores de nutrientes da parte aérea. Os resultados foram analisados por meio do programa estatístico SAS, utilizando a análise de variância (ANOVA) e a separação de médias pela diferença mínima significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey. Os teores de nutrientes nas folhas foram maiores nas parcelas com adubação mineral do que nas sem adubação, para todos os produtos e em ambas as culturas. Nas plantas de milho houve incremento significativo a 5% de probabilidade devido às doses para os nutrientes Ca e B; Zn; K; Ca e Mn com o uso dos produtos Brotax Solo®, Naturvital 25®, PT4-O® e Brotax-5®, respectivamente. Nas plantas de soja, o único produto que mostrou incremento significativo foi o PT4-O® para o teor de Fe. Os teores de nutrientes e de ácidos húmicos presentes na composição dos produtos, bem como as doses utilizadas neste estudo, não foram suficientes para provocarem grandes aumentos no conteúdo dos nutrientes nas plantas de milho e de soja nem na produção de massa seca.

Palavras-chave: nutrientes, bioestimulantes, produtividade.

Abstract

Biostimulants sources effects on maize and soybean nutrition

The presence of humic substances in biostimulants composition affect positively plant growth by the improvement of the cation exchange capacity of the soils (CEC) and also by the formation of water soluble complexes with ions which can be uptaken by roots. Biostimulants improve plant growth due to the cytokinin and humic acids present in their composition. Over the years the use of these products has been increasing and it is necessary to conduct more studies to evaluate their efficiency in promoting plant growth. The aim of this research was to evaluate the effect of biostimulants (Brotax Solo®, Naturvital®, PT4-O® and Brotax-5®), applied with and without mineral fertilization, on nutrient uptake by maize and soybean plants. A greenhouse experiment was conducted in Piracicaba, State of São Paulo, Brazil. Three-liter pots were filled with 0-20 cm depth samples of Quartzipsamment soil. Base saturation was increased to 60% by applying lime in the samples following incubation for 20 days at 80% the water retention capacity. After this period, mineral fertilizers were added to pots of specific treatments. The applied doses in L ha⁻¹ were: Brotax Solo®: 0; 150 and 300; Brotax-5®: 0; 8 and 16; Naturvital®: 0, 25 and 50; PT4-O®: 0; 0.5 and 1; referring to control, recommended dose by manufacturer and 100% higher than this one, respectively. The products were diluted in water and they were applied in the pots 21 days after planting. Two months after planting, plant tops were collected, dried, weighted and nutrient contents in plants were determined. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and means were compared by the LSD test ($\alpha = 0.05$). Nutrient content in plants was higher in fertilized than in non-fertilized pots, for all products and crops. Ca and B; Zn; K; Ca and Mg contents were higher in maize plants treated with Brotax Solo®, Naturvital 25®, PT4-O® and Brotax-5®, respectively. In soybean plants only the product PT4-O® showed increment in Fe content. The amount of nutrients and humic acids in the studied products was not sufficient to increase significantly the amount of nutrients in the maize and soybean plants.

Key words: nutrients, biostimulants, yield.

2.1. Introdução

A adubação realizada de forma racional é um dos fatores de importância no conjunto de medidas necessárias à elevação da produtividade das lavouras. Ao longo dos anos, o uso de adubos orgânicos tem mostrado a sua eficiência no desenvolvimento das culturas e na melhoria da qualidade dos produtos agrícolas, por estes apresentarem maior resistência às pragas e doenças e aumentos nos teores de nutrientes das plantas tratadas com esse tipo de adubo (ROCHA et al., 2001).

A solução do solo contém quantidades variáveis de matéria orgânica dissolvida, sendo composta na sua maioria por moléculas complexas de elevado peso molecular conhecidas por substâncias húmicas. Essas substâncias são materiais de ocorrência natural que podem ser extraídos de solos, de sedimentos e de aquíferos naturais.

As substâncias húmicas participam em processos agronômicos e ambientais. Servem de reservatório para micronutrientes no solo, disponibilizando-os mais tarde para as raízes das plantas; contribuem para a estruturação e capacidade tampão do solo, atuando na manutenção do seu regime hídrico.

A leonardita, matéria orgânica procedente de plantas que estiveram submetidas a condições geológicas favoráveis à mineralização e humificação, é usada como principal fonte natural de substâncias húmicas para a produção de bioestimulantes (FERNANDÉZ-ESCOBAR, 1992). Além da leonardita, outros produtos são usados na fabricação de bioestimulantes, tais como restos vegetais submetidos à fermentação, extrato de algas marinhas, aminoácidos e vitaminas (SANTOYO et al., 1998).

Vários estudos mostram que os produtos à base de substâncias húmicas estimulam a absorção mineral das plantas, o desenvolvimento radicular, os processos metabólicos, a atividade respiratória e o crescimento celular. Além disso, eles podem ter ação fitohormonal e atuar também nos processos fotossintéticos, no conteúdo e na distribuição de açúcares e na maturação de frutas e legumes (RUSSO e BERLYN, 1990; SANDERS et al., 1990).

Apesar de muitos resultados mostrarem efeitos favoráveis do uso destes produtos nas plantas, há trabalhos que mostram que os bioestimulantes podem não favorecer ou até mesmo diminuir a absorção de nutrientes pelas plantas, indicando que as respostas às suas aplicações podem depender de outros fatores, tais como da espécie da planta e da composição das

substâncias húmicas presentes nos produtos usados (CSIZINSZKY, 1990; COOPER et al., 1998; DELFINE et al., 2005).

Ao longo dos anos, a produção e o uso de muitos produtos comerciais contendo substâncias húmicas têm aumentado sendo imprescindível uma investigação científica para comprovar os efeitos na absorção de nutrientes pelas plantas e na melhoria do desenvolvimento geral do vegetal.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos de bioestimulantes na produção de matéria seca e absorção de nutrientes por plantas de milho e de soja submetidas à presença e à ausência de adubação mineral.

2.2 Revisão Bibliográfica

2.2.1 Uso de substâncias húmicas na agricultura

Quando o processo de decomposição da matéria orgânica ocorre até o ponto onde a estrutura celular do material orgânico, tanto animal quanto vegetal, não pode mais ser reconhecido, ela torna-se húmus. As tentativas de caracterização do húmus foram iniciadas em 1786, ao ter sido feita a extração de uma substância marrom do solo e da turfa pelo uso de soluções alcalinas. Adicionando-se em seguida ácido sulfúrico ao extrato, foi obtido um precipitado de coloração variando entre marrom a preto, conhecido hoje como ácido húmico (BROADBENT, 1964).

WAKESMAN (1932) citado por Flaig (1955) afirma que o húmus do solo não é um simples componente ou um pequeno grupo de componentes químicos, mas uma mistura de um grande número de substâncias orgânicas, pois a matéria orgânica é formada por uma extrema diversidade de fragmentos de plantas, animais e microrganismos que o origina. As substâncias húmicas são chamadas de ácidos quando os íons hidrogênio que predominam nos sítios de troca localizados na molécula húmica são substituídos por outros cátions (KELTING, 1997).

Os carboidratos, os aminoácidos, as gorduras, as resinas e os ácidos orgânicos de baixo peso molecular compõem as substâncias não-húmicas da matéria orgânica do solo. Estas substâncias influenciam as reações ácido-base, a complexação de metais e a agregação de partículas do solo. As substâncias húmicas apresentam coloração escura e são constituídas por compostos orgânicos com peso molecular relativamente alto (SILVA et al., 2000).

Os efeitos positivos das substâncias húmicas no crescimento das plantas estão relacionados com uma estimulação geral do crescimento e com efeitos indiretos na solubilização de nutrientes (FERNANDÉZ-ESCOBAR, 1992). A germinação estimulada de sementes, o crescimento das mudas e a aceleração do crescimento das plantas têm sido freqüentemente atribuídos a um aumento hormonal devido ao efeito das substâncias húmicas (O'DONNELL, 1973; TAN, 2003).

Algumas considerações podem ser verdadeiras, uma vez que os hormônios podem ser liberados pelas plantas e incorporados na estrutura molecular das substâncias húmicas, formadas no solo pela decomposição das plantas e dos microrganismos. Entretanto, o crescimento promovido pelas substâncias húmicas não deve ser limitado apenas aos hormônios, pois outras substâncias possuem efeitos similares a estes, tais como vitaminas e aminoácidos (TAN, 2003).

A degradação da lignina devido à atividade microbiana, por exemplo, pode produzir substâncias que apresentam atividade hormonal (STEVENSON, 1994). As vitaminas também são reconhecidas como substâncias capazes de promover o crescimento das plantas por serem sintetizadas pelas plantas e microrganismos do solo (TAN, 2003).

Kiehl (1985) afirma que as raízes das plantas podem absorver e metabolizar substâncias orgânicas fisiologicamente ativas, como as substâncias húmicas, ácidos fenólicos, carboxílicos e aminoácidos. Vaughan e Malcom (1985) afirmam que as substâncias húmicas têm efeito direto no metabolismo das plantas, implicando na sua absorção pelos tecidos vegetais.

Muitos estudos têm investigado os efeitos das substâncias húmicas presentes em produtos comerciais e, de maneira geral, os resultados têm sido positivos. Os ácidos húmicos são componentes que favorecem o desenvolvimento das plantas através do aumento da absorção de complexos de ferro pelas raízes por meio da formação de quelados (SANDERS et al., 1990; MALAVOLTA, 1997).

Segundo Duenhas (2004), os efeitos das substâncias húmicas na absorção iônica pelas raízes das plantas não são facilmente explicáveis devido à natureza complexa e ainda desconhecida destas substâncias. Fernández-Escobar et al. (1992) estudaram a resposta da oliveira à aplicação foliar de substâncias húmicas procedentes da leonardita e verificaram que houve estímulo no crescimento das plantas e aumento no tamanho dos frutos. Além disso, percebeu-se aumento significativo nos teores de potássio e de boro nas folhas.

Webb e Bings (1988) examinaram o efeito de um humato comercial incorporado diretamente a um solo cultivado com citros e verificaram que as plantas apresentaram um aumento da absorção de água e da área seccional do tronco das árvores.

Cooper et al. (1998) usaram biostimulants à base de leonardita para avaliar o potencial das substâncias húmicas em aumentar o crescimento radicular e a absorção de nutrientes em gramados (*Agrostis stolonifera* L.) cultivados em areia e em solução nutritiva, e constataram que a aplicação destes produtos aumentou em 26% a massa radicular das plantas, embora não tenha havido efeito significativo no aumento da concentração de nutrientes. Liu et al. (1998) obtiveram aumento nas concentrações de alguns nutrientes nos tecidos para esta espécie.

Santoyo et al. (1998) compararam o efeito de soluções contendo substâncias húmicas com outras que continham substâncias inorgânicas em plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) e afirmaram que o peso seco e a altura das plantas tratadas com as substâncias húmicas aumentaram significativamente em relação àquelas submetidas à solução inorgânica. Estes autores ratificaram O'Donnell (1973) ao afirmarem que há grupos funcionais dentro das moléculas húmicas que, em baixas concentrações, podem desenvolver efeitos semelhantes aos hormônios auxinas, giberelinas e citocininas, encontrados naturalmente nas plantas.

Em contraste com estes autores, um estudo feito por Laiche (1991) demonstrou que os ácidos húmicos têm efeito negativo no crescimento de algumas plantas ornamentais. Foi avaliada a eficiência dos ácidos húmicos na liberação de nutrientes, no índice de crescimento, no peso de matéria fresca e taxa de crescimento de raízes de quatro espécies de plantas ornamentais. O autor verificou que, quando os ácidos húmicos foram aplicados de forma isolada, a taxa de crescimento e a massa de matéria fresca diminuíram com a dose aplicada, enquanto que, ao serem aplicados juntamente com duas doses de fertilizantes, não houve efeito significativo no crescimento das plantas.

Sharif et al. (2002), estudando o efeito de ácidos húmicos, no desenvolvimento do milho, observaram aumento do peso de matéria seca da parte aérea e das raízes nas plantas com a dose aplicada.

Pinto e Carvalho (2003) aplicaram bioestimulantes provenientes da leonardita e obtiveram aumento na produtividade de videiras (*Vitis vinifera* L.) e na melhoria da qualidade dos frutos. Entretanto, Reynolds et al. (1995) aplicaram doses de bioestimulantes e observaram diminuição

da taxa de crescimento de videiras (*Vitis vinifera* L.) quando os tratamentos foram aplicados, além do aparecimento de clorose e necrose nas folhas.

2.2.2 Uso de Bioestimulantes na Agricultura

Os bioestimulantes são definidos por Russo e Berlyn (1990) como produtos que, quando aplicados nas plantas, reduzem a necessidade de fertilizantes e aumentam a produtividade e a resistência destas ao estresse hídrico e climático. Casillas et al. (1986) e Zhang e Schmidt (2000) afirmam que essas substâncias são eficientes quando aplicadas em pequenas concentrações, favorecendo o bom desempenho dos processos vitais da planta e permitindo, assim, a obtenção de maiores colheitas e produtos de melhor qualidade.

Vieira (2001) define os bioestimulantes como a mistura de dois ou mais reguladores vegetais ou de reguladores vegetais com outros produtos. Dentre estes produtos que estimulam o desenvolvimento das plantas estão os ácidos húmicos, algas marinhas, vitaminas, aminoácidos e ácido ascórbico (RUSSO e BERLYN, 1992). Segundo Ferrini e Nicese (2002), a utilização dos bioestimulantes serve como alternativa potencial à aplicação de fertilizantes para estimular a produção de raízes, especialmente em solos com baixa fertilidade e baixa disponibilidade de água.

Os bioestimulantes podem incrementar o crescimento e o desenvolvimento vegetal, estimulando a divisão celular e também a diferenciação e o alongamento celular; esses efeitos dependem da concentração, da natureza e da proporção das substâncias presentes nos produtos. Os bioestimulantes podem também aumentar a absorção e utilização de água e dos nutrientes pelas plantas (VIEIRA, 2001).

Alguns bioestimulantes também podem aumentar a concentração de nutrientes no tecido foliar devido à presença de ácidos húmicos em sua composição, os quais afetam positivamente a retenção de água e atuam como reserva de nutrientes pelo fato de terem alta capacidade de formarem complexos com íons metálicos solúveis em água (KELTING, 1997).

Casillas et al (1986) estudaram os efeitos de quatro bioestimulantes sobre a cultura do rabanete (*Raphanus sativus* L.), avaliando a germinação, altura de plantas, massa verde e seca e índice de colheita. Os resultados indicaram que os maiores valores de massa verde e seca das

raízes de plantas de rabanete foram obtidos quando o solo foi fertilizado previamente à aplicação dos bioestimulantes.

Russo e Berlyn (1990), em estudo com um bioestimulante produzido à base de uma mistura de algas marinhas, ácidos húmicos e vitaminas, demonstraram que o desenvolvimento de espécies arbóreas é melhorado quando as plântulas são tratadas com este produto antes de serem plantadas. Os autores relataram aumento do comprimento de raízes e de galhos e na melhoria da resistência ao estresse hídrico pelo aumento da quantidade de clorofila e da capacidade de regeneração radicular.

Sanders et al. (1990) avaliaram o efeito da aplicação de cinco bioestimulantes no desenvolvimento de cenoura (*Daucus carota* L.) e constataram aumento significativo no peso e no número de raízes.

Alguns estudos com bioestimulantes nem sempre têm mostrado efeitos positivos sobre o desenvolvimento das plantas. Em experimento conduzido por Csizinszky (1990) com dois cultivares de pimentão e seis bioestimulantes, o autor demonstrou que os bioestimulantes não tiveram influência na produtividade nem no conteúdo de nutrientes das plantas. Os bioestimulantes foram aplicados conforme as recomendações dos fabricantes e foi observado que, em um dos cultivares, o desenvolvimento das plantas foi similar ao do controle e menor em outro. Tweddell et al. (2000) aplicaram um bioestimulante em plantas de milho submetidas a diferentes níveis de adubação nitrogenada e não verificaram diferenças significativas na produção de grãos, biomassa seca e concentração de nutrientes no tecido foliar.

Rocha et al. (2001) constataram que as pulverizações de bioestimulante na cultura do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) promoveram aumento significativo na produtividade e em outras características dos frutos, tais como: diâmetro do fruto, peso da casca e volume, parâmetros que permitem melhor caracterização pós-colheita. Além disto, os bioestimulantes aumentaram a durabilidade dos frutos para a comercialização.

Fraser e Percival (2003) estudaram o efeito de quatro bioestimulantes em diferentes espécies arbóreas (*Quercus rubra*, *Betula pendula* e *Fagus sylvatica*), aplicados via solo e via foliar, e observaram que estes produtos melhoraram o desenvolvimento de raízes e o vigor das plantas. Entretanto, os autores observaram que a escolha de um bioestimulante apropriado deve ser feita em função das espécies adotadas, pois a resposta da planta ao bioestimulante varia muito de acordo com as características próprias do vegetal.

Em estudo feito por Zhang e Ervin (2003), foi investigada a influência de aplicações mensais de produtos à base de extratos de algas marinhas, matéria orgânica e aminoácidos como suplemento da adubação em gramados. Os autores constataram que além de melhorarem a qualidade dos gramados, também aumentaram a resistência às pragas e doenças e permitiram diminuir as aplicações de fertilizantes e de fungicidas.

Richardson et al. (2004) conduziram experimento em estufa para estudar de que modo um bioestimulante comercial melhoraria a saúde e a resistência ao estresse hídrico de árvores de *Betula papyrifera*, com três anos de idade, e observaram que as plantas tratadas com bioestimulante apresentaram maiores concentrações de nitrogênio nas folhas e menos danos causados pelo estresse hídrico.

2.3 Material e Métodos

Em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da ESALQ/USP foram instalados dois experimentos no período de março a junho de 2005. As culturas milho cultivar 30R75 e soja cultivar P98N82 da empresa Pioneer® Sementes foram selecionadas para este estudo.

Os bioestimulantes utilizados nos experimentos foram produzidos pelas empresas PROVASO (Brotax Solo® e Brotax-5®), DAYMSA (Naturvital®) e LBE Biotecnologia (PT4-O®), cujas características encontram-se nas Tabelas 2.1 e 2.2. As matérias-primas destes produtos são resíduos de cana-de-açúcar curtidos (Brotax Solo®, Brotax 5® e PT4-O®) e leonardita (Naturvital®).

Tabela 2.1 – Caracterização química dos bioestimulantes utilizados no experimento

Parâmetro	Bioestimulantes			
	Brotax Solo ®	Brotax-5 ®	PT4-O ®	Naturvital 25 ®
pH	4,7	5,6	1,50	13,0
N total (g L ⁻¹)	98,0	138,2	14,0	4,6
P ₂ O ₅ total (g L ⁻¹)	19,4	2,0	233,8	0,06
K ₂ O (g L ⁻¹)	22,0	23,0	5,6	63,0
Ca (g L ⁻¹)	0,40	0,32	0,41	4,9
Mg (g L ⁻¹)	1,1	0,33	0,7	1,9
S (g L ⁻¹)	52,1	26,8	1,1	10,1
Cu (mg dm ⁻³)	47,0	15,0	3,0	2,0
Fe (mg dm ⁻³)	360,0	261,0	162,0	1890,0
Mn (mg dm ⁻³)	235,0	12,0	7,0	18,0
Zn (mg dm ⁻³)	98,0	1100,0	6000,0	6,0
Matéria Orgânica (g L ⁻¹)	384,6	343,2	145,5	102,5
Carbono total (g L ⁻¹)	213,7	190,6	80,8	56,9
Ácido húmico (g L ⁻¹)	71,3	58,6	N.D. [†]	163,6
Ácido fúlvico (g L ⁻¹)	120,3	114,7	185,4	84,3
Relação C/N	2/1	1/1	6/1	13/1
Densidade (g mL ⁻¹)	1,25	1,25	1,24	1,16

[†] N.D. = não detectável

A caracterização química dos produtos foi realizada no Departamento de Ciência do Solo da ESALQ – USP e no Instituto de Química de São Carlos – USP. As determinações dos aminoácidos presentes nos bioestimulantes (Tabela 2.2) foram realizadas no laboratório LABTEC, em Campinas, SP.

Tabela 2.2 – Aminograma dos produtos utilizados no experimento

Aminoácido	Bioestimulantes			
	Brotax Solo ®	Naturvital 25 ®	PT4-O ®	Brotax-5 ®
	----- (%) -----			
Alanina	0,74	ND	0,28	1,20
Arginina	0,17	ND	0,58	1,29
Ácido aspártico	1,34	ND	0,78	0,71
Glicina	0,20	ND	0,18	2,13
Isoleucina	0,14	ND	0,41	0,19
Leucina	0,22	ND	0,65	0,33
Ácido glutâmico	3,10	ND	1,19	2,38
Lisina	0,16	ND	0,37	0,35
Tirosina	ND	ND	0,27	ND
Cistina	0,02	ND	ND	0,09
Metionina	ND	ND	0,05	0,08
Fenilalanina	0,12	ND	0,42	0,25
Treolina	0,24	ND	0,25	0,17
Prolina	ND	ND	0,43	1,26
Valina	0,18	ND	0,41	0,37
Histidina	0,06	ND	0,17	0,07
Serina	0,15	ND	0,27	0,28

[†] ND= não detectável

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente aleatorizado seguindo um esquema fatorial 3x2 com três repetições: três doses do produto na ausência ou presença de adubação mineral, totalizando 18 parcelas experimentais para cada produto e cultura. As doses dos bioestimulantes utilizadas estão indicadas na Tabela 2.3. Os tratamentos 1 e 2 correspondem à dose recomendada pelo fabricante e a uma dose 100% maior, respectivamente.

Tabela 2.3 – Doses dos bioestimulantes utilizadas nos experimentos

Bioestimulante	Doses						
	Controle	----- Tratamento 1 ----		----- Tratamento 2 ----			
		milho	soja	milho	soja		
		L ha ⁻¹	--- mL/vaso ---	L ha ⁻¹	--- mL/vaso ---		
Brotax Solo ®	0	150	5,0	1,2	300	10,0	2,4
Brotax-5 ®	0	8	0,3	0,06	16	0,6	0,12
Naturvital 25 ®	0	25	0,8	0,2	50	1,6	0,4
PT4-O ®	0	0,5	0,02	0,004	1	0,04	0,008

Para a aplicação nos vasos, as doses de campo foram calculadas com base na quantidade de plantas de cada cultura por hectare e depois relacionadas para duas plantas por vaso.

Os experimentos foram conduzidos em vasos de três litros onde foram acondicionadas amostras da camada 0-20 cm de um Neossolo Quartzarênico do município de Piracicaba, SP, cuja caracterização química, segundo Raij et al. (2001), encontra-se na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 – Caracterização química e física do Neossolo Quartzarênico utilizado nos experimentos

Parâmetro	Valor
pH CaCl ₂	4,1
P (mg dm ⁻³)	2,8
K (mmol _c dm ⁻³)	1,3
Ca (mmol _c dm ⁻³)	2,0
Mg (mmol _c dm ⁻³)	1,5
Al (mmol _c dm ⁻³)	6,0
H+Al (mmol _c dm ⁻³)	28,0
S. B. (mmol _c dm ⁻³)	4,8
C.T.C (mmol _c dm ⁻³)	32,8
V (%)	14,6
M.O. (g dm ⁻³)	1,4
Cu (mg dm ⁻³)	0,3
Zn (mg dm ⁻³)	0,5
Mn (mg dm ⁻³)	7,1
Fe (mg dm ⁻³)	22,3
B (mg dm ⁻³)	0,2
S (mg dm ⁻³)	17,7
Areia (g kg ⁻¹)	840
Silte (g kg ⁻¹)	40
Argila (g kg ⁻¹)	120

Como o solo apresentou alta acidez e baixa saturação por bases, as amostras foram tratadas com 0,6 mg dm⁻³ de carbonato de cálcio P.A. e 0,2 mg dm⁻³ de carbonato de magnésio P.A., cujas doses foram calculadas para elevação da saturação por bases a 60%. Após a incorporação dos carbonatos, as amostras foram incubadas por 20 dias com umidade referente a 70 % da capacidade de retenção de água.

Após este período, as terras foram submetidas à adubação mineral naquelas parcelas onde se pretendia avaliar os efeitos da interação entre a adubação mineral e as doses dos condicionadores. Foram aplicados 150 mg dm⁻³ de N ((NH₄)₂SO₄ com 20% de N), 100 mg dm⁻³ de K (KCl com 60% de K₂O) e 300 mg dm⁻³ de P (superfosfato simples com 18% de P₂O₅), seguindo recomendações de Raij et al. (2001) para elevar estes nutrientes do nível baixo para médio-alto no solo. Os micronutrientes, na forma de solução, foram aplicados juntamente com a

água de irrigação, a saber: $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de boro (H_3BO_3 com 17,7% de B); $0,8 \text{ mg dm}^{-3}$ de Cu ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ com 25,6% de Cu) e Zn ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ com 22,6% de Zn).

Após a realização da adubação mineral, foi efetuada a semeadura utilizando-se cinco sementes por vaso, deixando-se duas plantas por vaso após o desbaste.

Os bioestimulantes foram diluídos em água obedecendo às doses estabelecidas e aplicados ao solo vinte e um dias depois da semeadura. Como as doses apresentavam baixos volumes a serem aplicados por vaso, foi adotado o seguinte critério de aplicação: cada vaso recebeu 100 mL da diluição feita com a dose de cada produto, de forma a possibilitar que o solo recebesse as doses de forma mais homogênea possível.

Dois meses após a semeadura, a parte aérea das plantas foi colhida, secada em forno a 65°C , pesada e submetida à determinação dos teores de macro e micronutrientes segundo Malavolta (1997).

As análises estatísticas foram feitas por meio do programa estatístico SAS versão 8.2 (SAS INST., 2002). O efeito dos tratamentos foi avaliado por análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pela diferença mínima significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

2.4 Resultados e Discussão

As Tabelas 2.5, 2.6, 2.7 e 2.8 mostram as médias obtidas para os conteúdos de nutrientes presentes nas plantas de milho com o uso dos produtos Brotax Solo®, Naturvital 25®, PT4-O® e Brotax-5®, respectivamente. As médias entre as parcelas com e sem adubação mineral apresentaram diferença estatística significativa a 5% de probabilidade e os maiores valores foram obtidos para as parcelas que receberam adubação mineral para todos os produtos usados.

A Tabela 2.5 apresenta as médias obtidas pelo uso do bioestimulante Brotax Solo® no experimento com plantas de milho. Os conteúdos de cálcio e de boro nestas plantas apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade entre as doses do produto. Para os demais nutrientes as doses aplicadas não apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade.

Tabela 2.5 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de milho tratadas com o bioestimulante Brotax Solo® na presença e ausência de adubação mineral

(continua)

Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- N (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,54	0,03	0,29a
1	150	0,56	0,05	0,31a
2	300	0,56	0,06	0,32a
Média		0,56x	0,05y	
		----- P (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,32	0,01	0,16a
1	8	0,31	0,01	0,15a
2	16	0,39	0,01	0,19a
Média		0,34x	0,01y	
		----- K (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,11	0,01	0,06a
1	150	0,16	0,01	0,09a
2	300	0,16	0,01	0,09a
Média		0,15x	0,01y	
		----- Ca (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,52	0,03	0,28ab
1	150	0,48	0,03	0,26b
2	300	0,55	0,05	0,30a
Média		0,52x	0,04y	
		----- Mg (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,09	0,02	0,06a
1	150	0,10	0,03	0,06a
2	300	0,12	0,04	0,08a
Média		0,11x	0,03y	
		----- S (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,03	0,01	0,02a
1	150	0,03	0,01	0,02a
2	300	0,03	0,01	0,02a
Média		0,03x	0,01y	

Tabela 2.5 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de milho tratadas com o bioestimulante Brotax Solo® na presença e ausência de adubação mineral

Tratamento	Dose (L ha ⁻¹)	(conclusão)		
		Adubação mineral		Média [†]
		Presença	Ausência	
----- B (mg/duas plantas)-----				
Controle	0	0,84	0,02	0,43b
1	150	0,87	0,11	0,49b
2	300	1,27	0,24	0,76a
Média		1,00x	0,13y	
----- Cu (mg/ duas plantas)-----				
Controle	0	0,09	0,01	0,05a
1	150	0,08	0,01	0,05a
2	300	0,07	0,02	0,05a
Média		0,08x	0,02y	
----- Fe (mg/ duas plantas)-----				
Controle	0	2,72	0,25	1,48a
1	150	2,72	0,29	1,50a
2	300	2,84	0,37	1,60a
Média		2,76x	0,30y	
----- Mn (mg/ duas plantas)-----				
Controle	0	11,7	0,25	5,97a
1	150	9,57	0,30	4,94a
2	300	12,2	0,39	6,32a
Média		11,2x	0,31y	
----- Zn (mg/ duas plantas)-----				
Controle	0	0,52	0,05	0,29a
1	150	0,57	0,06	0,32a
2	300	0,67	0,08	0,38a
Média		0,58x	0,07y	

[†] médias seguidas da mesma letra (a ou b na coluna e x ou y na linha) não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste t

A Tabela 2.6 indica que o bioestimulante Naturvital 25® mostrou efeito significativo entre as doses aplicadas apenas para o conteúdo de zinco das plantas de milho, não causando efeito significativo para os demais nutrientes. A dose recomendada pelo fabricante deste produto foi aquela que favoreceu o maior conteúdo de zinco nestas plantas.

Tabela 2.6 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de milho tratadas com o bioestimulante Naturvital 25® na presença e ausência de adubação mineral

(continua)

Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- N (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,53	0,04	0,29a
1	25	0,67	0,06	0,36a
2	50	0,52	0,04	0,28a
Média		0,57x	0,05y	
		----- P (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,31	0,01	0,16a
1	25	0,39	0,01	0,19a
2	50	0,31	0,01	0,16a
Média		0,34x	0,01y	
		----- K (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,17	0,01	0,09a
1	25	0,14	0,01	0,07a
2	50	0,17	0,01	0,09a
Média		0,16x	0,01y	
		----- Ca (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,44	0,03	0,24a
1	25	0,52	0,04	0,28a
2	50	0,51	0,04	0,27a
Média		0,49x	0,04y	
		----- Mg (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,11	0,03	0,08a
1	25	0,13	0,03	0,07a
2	50	0,09	0,04	0,06a
Média		0,11x	0,03y	
		----- S (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,03	0,01	0,01a
1	25	0,04	0,01	0,02a
2	50	0,03	0,01	0,02a
Média		0,04x	0,01y	

Tabela 2.6 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de milho tratadas com o bioestimulante Naturvital 25® na presença e ausência de adubação mineral

(conclusão)				
Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- B (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,83	0,04	0,43a
1	25	0,69	0,06	0,38a
2	50	0,77	0,05	0,41a
Média		0,76x	0,05y	
		----- Cu (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,16	0,02	0,09a
1	25	0,12	0,01	0,06a
2	50	0,12	0,02	0,06a
Média		0,13x	0,02y	
		----- Fe (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	2,94	0,38	1,66a
1	25	3,51	0,35	1,93a
2	50	2,80	0,34	1,57a
Média		3,08x	0,36y	
		----- Mn (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	11,6	0,34	5,98a
1	25	12,3	0,36	6,32a
2	50	10,5	0,35	5,43a
Média		11,4x	0,35y	
		----- Zn (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,51	0,06	0,29b
1	25	0,77	0,08	0,42a
2	50	0,68	0,06	0,37ab
Média		0,65x	0,07y	

[†] médias seguidas da mesma letra (a ou b na coluna e x ou y na linha) não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste t

Conforme mostra a Tabela 2.7, o bioestimulante PT4-O apresentou diferença significativa entre as doses somente para o conteúdo de potássio das plantas de milho. A dose recomendada pelo fabricante do bioestimulante PT4-O foi a única que aumentou significativamente o conteúdo de potássio na planta, não mostrando efeito significativo para os demais nutrientes.

Tabela 2.7 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de milho tratadas com o bioestimulante PT4-O® na presença e ausência de adubação mineral

(continua)

Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- N (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,51	0,04	0,27a
1	0,5	0,51	0,03	0,27a
2	1	0,50	0,03	0,26a
Média		0,50x	0,03y	
		----- P (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,32	0,01	0,16a
1	0,5	0,33	0,01	0,17a
2	1	0,30	0,01	0,15a
Média		0,32x	0,01y	
		----- K (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,14	0,01	0,07b
1	0,5	0,24	0,02	0,13a
2	1	0,17	0,04	0,11ab
Média		0,18x	0,02y	
		----- Ca (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,53	0,04	0,28a
1	0,5	0,58	0,03	0,31a
2	1	0,48	0,03	0,26a
Média		0,53x	0,03y	
		----- Mg (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,10	0,03	0,07a
1	0,5	0,09	0,02	0,06a
2	1	0,10	0,02	0,06a
Média		0,10x	0,03y	
		----- S (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,03	0,01	0,02a
1	0,5	0,04	0,01	0,02a
2	1	0,03	0,01	0,02a
Média		0,03x	0,01y	

Tabela 2.7 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de milho tratadas com o bioestimulante PT4-O® na presença e ausência de adubação mineral

(conclusão)				
Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- B (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,68	0,02	0,35a
1	0,5	0,88	0,02	0,46a
2	1	0,67	0,03	0,35a
Média		0,75x	0,02y	
		----- Cu (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,16	0,01	0,08a
1	0,5	0,17	0,01	0,09a
2	1	0,12	0,01	0,07a
Média		0,15x	0,01y	
		----- Fe (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	2,89	0,22	1,56a
1	0,5	5,05	0,23	2,64a
2	1	2,72	0,24	1,48a
Média		3,55x	0,23y	
		----- Mn (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	10,0	0,22	5,12a
1	0,5	13,2	0,24	6,74a
2	1	10,5	0,30	5,43a
Média		11,3x	0,26y	
		----- Zn (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,59	0,04	0,32a
1	0,5	0,61	0,04	0,33a
2	1	0,61	0,05	0,34a
Média		0,59x	0,04y	

[†] médias seguidas da mesma letra (a ou b na coluna e x ou y na linha) não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste t

As médias apresentadas na Tabela 2.8 mostram que houve diferenças estatísticas significativas para as médias de cálcio e manganês das plantas de milho, mas as variações foram pouco expressivas em ambos os casos. Para o cálcio, as doses 1 e 2 do bioestimulante Brotax 5® foram efetivas, enquanto que para o manganês, somente a dose 1 superou o controle.

Tabela 2.8 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de milho tratadas com o bioestimulante Brotax 5® na presença e ausência de adubação mineral

(continua)

Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- N (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,58	0,03	0,31a
1	8	0,45	0,04	0,25a
2	16	0,58	0,04	0,31a
Média		0,54x	0,04y	
		----- P (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,33	0,01	0,17a
1	8	0,28	0,01	0,14a
2	16	0,29	0,01	0,15a
Média		0,30x	0,01y	
		----- K (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,24	0,01	0,13a
1	8	0,15	0,01	0,08b
2	16	0,12	0,01	0,06b
Média		0,17x	0,01y	
		----- Ca (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,47	0,04	0,25b
1	8	0,54	0,04	0,29a
2	16	0,57	0,04	0,31a
Média		0,53x	0,04y	
		----- Mg (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,10	0,03	0,06a
1	8	0,09	0,03	0,06a
2	16	0,09	0,04	0,06a
Média		0,09x	0,03y	
		----- S (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,04	0,01	0,02a
1	8	0,03	0,01	0,01a
2	16	0,03	0,01	0,02a
Média		0,03x	0,01y	

Tabela 2.8 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de milho tratadas com o bioestimulante Brotax 5® na presença e ausência de adubação mineral (conclusão)

Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- B (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,81	0,03	0,42a
1	8	0,81	0,03	0,42a
2	16	0,78	0,04	0,41a
Média		0,79x	0,03y	
		----- Cu (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,14	0,01	0,08a
1	8	0,12	0,01	0,06a
2	16	0,12	0,01	0,07a
Média		0,13x	0,01y	
		----- Fe (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	3,34	0,21	1,78a
1	8	2,32	0,23	1,27a
2	16	2,76	0,26	1,78a
Média		2,81x	0,23y	
		----- Mn (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	9,25	0,27	4,76b
1	8	10,2	0,28	5,24a
2	16	9,70	0,29	4,99ab
Média		9,72x	0,28y	
		----- Zn (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,79	0,05	0,42a
1	8	0,63	0,05	0,34a
2	16	0,79	0,05	0,42a
Média		0,74x	0,05y	

[†] médias seguidas da mesma letra (a ou b na coluna e x ou y na linha) não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste t

As médias obtidas para os nutrientes nas plantas de soja são mostradas nas Tabelas 2.9, 2.10, 2.11 e 2.12 para os produtos Brotax Solo®, Naturvital 25®, PT4-O® e Brotax-5®, respectivamente. Assim como foi observado para as plantas de milho, a média entre as parcelas com adubação mineral superou a média das parcelas não adubadas ao nível de 5% de probabilidade.

Na comparação entre as doses aplicadas no experimento para a soja, nenhum dos produtos mostrou efeito significativo à exceção do bioestimulante PT4-O que mostrou efeito significativo somente para o conteúdo de ferro (Tabela 2.11). Contudo, esse efeito não foi consistente, pois nenhuma das doses foi superior ao controle.

Chen et al. (2004) e Marschner (1995) afirmam que as plantas respondem à aplicação de produtos à base de ácidos húmicos por haver aumento da disponibilidade de micronutrientes do solo para as plantas, especialmente ferro e zinco, através da complexação ou da formação de complexos destes metais com as substâncias húmicas.

Tabela 2.9 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de soja tratadas com o bioestimulante Brotax Solo® na presença e ausência de adubação mineral

(continua)

Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- N (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,52	0,07	0,29a
1	150	0,37	0,06	0,21a
2	300	0,40	0,08	0,24a
Média		0,43x	0,07y	
		----- P (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,10	0,01	0,05a
1	150	0,08	0,01	0,04a
2	300	0,07	0,01	0,04a
Média		0,08x	0,01y	
		----- K (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,13	0,01	0,07a
1	150	0,10	0,01	0,06a
2	300	0,09	0,01	0,05a
Média		0,11x	0,01y	
		----- Ca (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,15	0,03	0,09a
1	150	0,12	0,02	0,07a
2	300	0,11	0,02	0,06a
Média		0,13x	0,02y	

Tabela 2.9 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de soja tratadas com o bioestimulante Brotax Solo® na presença e ausência de adubação mineral

(conclusão)				
Tratamento	Dose	Adubação mineral		Média [†]
		Presença	Ausência	
	(L ha ⁻¹)	----- Mg (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,04	0,01	0,03a
1	150	0,03	0,01	0,02a
2	300	0,03	0,01	0,02a
Média		0,03x	0,01y	
		----- S (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,02	0,01	0,01a
1	150	0,02	0,01	0,01a
2	300	0,02	0,01	0,01a
Média		0,02x	0,01y	
		----- B (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,30	0,05	0,17a
1	150	0,38	0,04	0,21a
2	300	0,36	0,06	0,21a
Média		0,34x	0,05y	
		----- Cu (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,03	0,05	0,04a
1	150	0,02	0,01	0,01a
2	300	0,02	0,02	0,02a
Média		0,02x	0,03y	
		----- Fe (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	1,30	0,18	0,74a
1	150	0,91	0,12	0,51a
2	300	0,68	0,16	0,42a
Média		0,96x	0,15y	
		----- Mn (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	2,58	0,08	1,33a
1	150	1,50	0,06	0,78a
2	300	1,78	0,08	0,93a
Média		1,95x	0,07y	
		----- Zn (mg/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,50	0,05	0,28a
1	150	0,36	0,03	0,20a
2	300	0,42	0,05	0,24a
Média		0,43x	0,04y	

[†] médias seguidas da mesma letra (a ou b na coluna e x ou y na linha) não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste t

Tabela 2.10 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de soja tratadas com o bioestimulante Naturvital 25® na presença e ausência de adubação mineral

(continua)

Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- N (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,49	0,08	0,29a
1	25	0,56	0,08	0,32a
2	50	0,43	0,08	0,26a
Média		0,49x	0,08y	
		----- P (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,08	0,01	0,04a
1	25	0,11	0,01	0,06a
2	50	0,07	0,01	0,04a
Média		0,08x	0,01y	
		----- K (g/ duas plantas)-----		
Controle	0	0,10	0,01	0,05a
1	25	0,14	0,01	0,08a
2	50	0,14	0,01	0,08a
Média		0,13x	0,01y	
		----- Ca (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,13	0,03	0,08a
1	25	0,16	0,02	0,09a
2	50	0,12	0,02	0,07a
Média		0,14x	0,02y	
		----- Mg (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,03	0,01	0,02a
1	25	0,04	0,01	0,03a
2	50	0,03	0,01	0,02a
Média		0,04x	0,01y	
		----- S (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,02	0,01	0,01a
1	25	0,01	0,01	0,01a
2	50	0,02	0,01	0,01a
Média		0,02x	0,01y	

Tabela 2.10 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de soja tratadas com o bioestimulante Naturvital 25® na presença e ausência de adubação mineral

(conclusão)				
Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- B (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	0,29	0,05	0,17a
1	25	0,34	0,05	0,19a
2	50	0,31	0,05	0,18a
Média		0,31x	0,05y	
		----- Cu (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	0,02	0,01	0,02a
1	25	0,02	0,01	0,02a
2	50	0,02	0,01	0,02a
Média		0,02x	0,01y	
		----- Fe (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	1,01	0,17	0,59a
1	25	1,03	0,17	0,60a
2	50	0,78	0,16	0,47a
Média		0,94x	0,17y	
		----- Mn (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	1,96	0,14	1,05a
1	25	2,24	0,11	1,18a
2	50	1,59	0,11	0,85a
Média		1,93x	0,12y	
		----- Zn (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	0,36	0,06	0,21a
1	25	0,50	0,05	0,28a
2	50	0,49	0,05	0,28a
Média		0,45x	0,05y	

[†] médias seguidas da mesma letra (a ou b na coluna e x ou y na linha) não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste t

Tabela 2.11 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de soja tratadas com o bioestimulante PT4-O® na presença e ausência de adubação mineral

(continua)

Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- N (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,56	0,08	0,32a
1	0,5	0,58	0,07	0,32a
2	1	0,49	0,08	0,28a
Média [†]		0,54x	0,08y	
		----- P (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,10	0,01	0,05a
1	0,5	0,11	0,01	0,06a
2	1	0,09	0,01	0,05a
Média		0,10x	0,01y	
		----- K (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,14	0,01	0,07a
1	0,5	0,16	0,01	0,08a
2	1	0,16	0,01	0,08a
Média		0,15x	0,01y	
		----- Ca (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,15	0,02	0,08a
1	0,5	0,17	0,02	0,09a
2	1	0,14	0,02	0,08a
Média		0,16x	0,02y	
		----- Mg (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,04	0,01	0,03a
1	0,5	0,04	0,01	0,03a
2	1	0,04	0,01	0,03a
Média		0,04x	0,01y	
		----- S (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,01	0,01	0,01a
1	0,5	0,02	0,01	0,02a
2	1	0,02	0,01	0,02a
Média		0,02x	0,01y	

Tabela 2.11 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de soja tratadas com o bioestimulante PT4-O® na presença e ausência de adubação mineral

(conclusão)				
Tratamento	Dose	Adubação mineral		Média†
		Presença	Ausência	
	(L ha ⁻¹)	----- B (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	0,29	0,05	0,17a
1	0,5	0,33	0,04	0,19a
2	1	0,31	0,04	0,18a
Média		0,31x	0,05y	
		----- Cu (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	0,02	0,01	0,02a
1	0,5	0,02	0,01	0,02a
2	1	0,02	0,01	0,02a
Média		0,02x	0,01y	
		----- Fe (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	1,00	0,16	0,57ab
1	0,5	1,49	0,13	0,81a
2	1	0,90	0,15	0,52b
Média		1,13x	0,15y	
		----- Mn (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	2,30	0,12	1,21a
1	0,5	3,02	0,09	1,56a
2	1	2,23	0,09	1,16a
Média		2,52x	0,10y	
		----- Zn (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	0,52	0,06	0,29a
1	0,5	0,70	0,05	0,38a
2	1	0,43	0,05	0,24a
Média		0,56x	0,05y	

[†] médias seguidas da mesma letra (a ou b na coluna e x ou y na linha) não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste t

Tabela 2.12 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de soja tratadas com o bioestimulante Brotax 5® na presença e ausência de adubação mineral

(continua)

Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- N (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,61	0,08	0,35a
1	8	0,60	0,09	0,34a
2	16	0,64	0,07	0,36a
Média [†]		0,62x	0,08y	
		----- P (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,11	0,01	0,06a
1	8	0,10	0,01	0,05a
2	16	0,12	0,01	0,06a
Média		0,11x	0,01y	
		----- K (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,13	0,01	0,07a
1	8	0,12	0,01	0,07a
2	16	0,14	0,01	0,08a
Média		0,13x	0,01y	
		----- Ca (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,16	0,02	0,09a
1	8	0,13	0,03	0,08a
2	16	0,18	0,02	0,10a
Média		0,16x	0,02y	
		----- Mg (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,04	0,01	0,03a
1	8	0,04	0,01	0,03a
2	16	0,04	0,01	0,03a
Média		0,04x	0,01y	
		----- S (g/duas plantas)-----		
Controle	0	0,02	0,01	0,01a
1	8	0,02	0,01	0,01a
2	16	0,02	0,01	0,01a
Média		0,02x	0,01y	

Tabela 2.12 – Quantidade de nutrientes acumulados em plantas de soja tratadas com o bioestimulante Brotax 5® na presença e ausência de adubação mineral

(conclusão)				
Tratamento	Dose	Adubação mineral		
		Presença	Ausência	Média [†]
	(L ha ⁻¹)	----- B (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	0,28	0,05	0,21a
1	8	0,36	0,05	0,17a
2	16	0,31	0,04	0,18a
Média		0,32x	0,05y	
		----- Cu (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	0,03	0,01	0,02a
1	8	0,02	0,01	0,02a
2	16	0,03	0,01	0,02a
Média		0,03x	0,01y	
		----- Fe (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	1,24	0,15	0,69a
1	8	0,98	0,18	0,58a
2	16	1,05	0,12	0,59a
Média		1,09x		
		----- Mn (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	2,28	0,09	1,19a
1	8	2,32	0,10	1,22a
2	16	3,04	0,08	1,56a
Média		2,55x	0,09y	
		----- Zn (mg/duas plantas)-----		
Controle	0	0,57	0,03	0,30a
1	8	0,54	0,04	0,29a
2	16	0,62	0,04	0,32a
Média		0,58x	0,04y	

[†] médias seguidas da mesma letra (a ou b na coluna e x ou y na linha) não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste t

De maneira geral, os resultados obtidos neste estudo mostraram que a aplicação de quatro bioestimulantes comerciais ao solo resultou pouco ou nenhum acréscimo significativo nos conteúdos dos nutrientes nas plantas. Estes valores ficaram abaixo da faixa de valores adequada para as culturas de milho e de soja (MALAVOLTA, 1997). Em alguns casos os resultados se assemelharam aos encontrados por Csizinszky (1990) que observou conteúdo de nutrientes mais

altos nas plantas controle do que nas submetidas às aplicações dos bioestimulantes. Castilhos et al (2005) não obtiveram efeito de substâncias húmicas sobre os parâmetros de crescimento de plantas de alface. A produção de matéria seca na presença da adubação mineral foi superior à obtida na ausência desta adubação ao nível de 5% de probabilidade.

A Tabela 2.13 mostra a produção de matéria seca de parte aérea das plantas de milho e de soja submetidas à aplicação das doses dos produtos

Tabela 2.13 – Produção de matéria seca da parte aérea de plantas de milho e de soja em resposta à aplicação de bioestimulantes em associação ou não com adubação mineral

a aplicação de bioestimulantes em associação ou não com adubação mineral							
Tratamento	Dose	Milho			Soja		
		Adubação Mineral			Adubação Mineral		
	Presença	Ausência	Média [†]	Presença	Ausência	Média [†]	
	L ha ⁻¹	----- g -----					
Brotax Solo ®							
Controle	0	49,4	2,2	25,8 ab	7,8	1,4	4,6 a
1	150	54,0	3,2	28,6 a	9,7	1,5	5,6 a
2	300	47,6	2,6	25,1 b	7,2	1,4	4,3 a
Média [†]		50,4 x	2,7 y		8,2 x	1,4 y	
Naturvital ®							
Controle	0	50,5	1,9	26,2 a	9,6	1,4	5,5 a
1	25	49,2	2,4	25,8 a	10,6	1,4	6,0 a
2	50	51,3	2,9	27,1 a	9,2	1,4	5,3 a
Média [†]		50,3 x	2,4 y		9,8 x	1,4 y	
PT4-O ®							
Controle	0	50,7	2,1	26,4 a	10,6	1,4	6,0 a
1	0,5	51,1	2,3	26,7 a	9,3	1,5	5,4 a
2	1	49,2	2,4	25,8 a	10,9	1,2	6,1 a
Média [†]		50,3 x	2,3y		10,3 x	1,4 y	
Brotax-5 ®							
Controle	0	52,5	1,9	27,2 a	9,1	1,4	5,2 a
1	8	48,4	2,2	25,3 a	6,8	0,9	3,9 a
2	16	48,6	3,0	25,8 a	6,9	1,2	4,0 a
Média [†]		49,8 x	1,8 y		7,6 x	1,2 y	

[†] médias seguidas da mesma letra (a ou b na coluna e x ou y na linha) não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste t

Entre as médias das doses aplicadas dos bioestimulantes não houve diferença estatística significativa tanto para as plantas de milho quanto para as de soja, à exceção do produto Brotax

Solo® aplicado ao milho. Contudo, as diferenças foram pequenas e nenhuma das doses diferiu do controle.

Delfine et al. (2005) não encontraram resultados positivos na produtividade de trigo submetido à aplicação de ácidos húmicos. Além disso, os autores afirmam que a aplicação de produtos com a presença de ácidos húmicos em sua composição não aumenta o conteúdo de nutrientes em plantas de trigo e, portanto, sendo desnecessária a sua aplicação visando à melhoria da nutrição mineral das plantas.

As quantidades de nutrientes presentes nestas doses fornecidas às plantas foram muito baixas, conforme se observa na Tabela 2.14. Estas quantidades não são suficientes para refletirem incremento significativo de nutrientes no tecido vegetal quando comparadas com as quantidades necessárias de adubos recomendadas por Raij et al (1997) para o milho e para a soja.

Tabela 2.14 – Quantidades de nutrientes fornecidas ao solo com a aplicação das doses dos produtos

Nutriente	Bioestimulantes							
	Brotax Solo ®		Naturvital 25 ®		PT4-O ®		Brotax-5 ®	
	dose 1	dose 2	dose 1	dose 2	dose 1	dose 2	dose 1	dose 2
N (kg ha ⁻¹)	14,7	29,4	0,11	0,23	0,00	0,01	1,11	2,21
P (kg ha ⁻¹)	1,27	2,53	0,00	0,00	0,05	0,10	0,01	0,01
K (kg ha ⁻¹)	2,74	5,48	1,31	2,61	0,00	0,00	0,15	0,31
Ca (kg ha ⁻¹)	0,06	0,12	0,12	0,25	0,00	0,00	0,00	0,01
Mg (kg ha ⁻¹)	0,16	0,32	0,05	0,09	0,00	0,00	0,00	0,01
S (kg ha ⁻¹)	7,82	15,6	0,25	0,51	0,00	0,00	0,21	0,43
Cu (g ha ⁻¹)	7,05	14,1	0,05	0,10	0,00	0,00	0,12	0,24
Fe (g ha ⁻¹)	54,0	108,0	47,2	94,5	0,08	0,16	2,09	4,18
Mn (g ha ⁻¹)	35,2	70,5	0,45	0,90	0,00	0,00	0,09	0,19
Zn (g ha ⁻¹)	14,7	29,4	0,15	0,30	3,0	6,0	8,8	17,6

A aplicação de doses maiores destes produtos ao solo poderia ser uma maneira de proporcionar incrementos maiores de nutrientes nas plantas. Além disso, os produtos poderiam apresentar maiores concentrações de nutrientes em sua composição de forma a permitir maior suprimento para as plantas nas doses recomendadas.

De acordo com as condições deste experimento, a aplicação dos produtos utilizados não apresenta vantagens para aumento na produtividade de milho e de soja, representando mais um custo ao produtor.

2.5 Conclusões

O uso dos bioestimulantes selecionados para este estudo não aumentou o conteúdo dos nutrientes nas plantas de milho e de soja nas doses aplicadas.

O peso de matéria seca de parte aérea das plantas não foi incrementado com a aplicação das doses dos bioestimulantes.

As concentrações de nutrientes presentes nos bioestimulantes e as doses recomendadas resultam quantidades de nutrientes muito inferiores às necessárias para se obter produtividades satisfatórias.

Referências

BROADBENT, FE. Effects of organic matter on nitrogen and phosphorus supply to plants. In: Y. CHEN, Y. AVNIMELECH (Ed.). **The role of organic matter in modern agriculture**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1986. p. 13-25.

CASILLAS, V.J.C.; LONDOÑO, I. J.; GUERRERO, A.H.; BUITRAGO, G.L.A. Analisis cuantitativo de la aplicacion de cuatro bioestimulantes en el cultivo del rabano (*Raphanus sativus* L.). **Acta Agronomica**, Palmira, v.36, n. 2, p. 185-195, 1986.

CSINZINSZKY, A.A. Response of two bell peppers (*Capsicum annum* L.) cultivars to foliar and soil-applied biostimulants. **Soil Science Society of America Proceedings**, n. 49, p.199-203, 1990.

COOPER, R.J.; LIU, C.; FISCHER, D.S. Influence of humic substances on rooting and nutrient content of creeping bentgrass. **Crop Science**, Madison, v.38, p.1639-1644, 1998.

DELFINE, S.; TOGNETTI, R.; DESIDERIO, E.; ALVINO, A. Effects of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat **Agronomy for Sustainable Development**, Versailles, v. 25, p. 183-191, 2005.

DUENHAS, L.H. **Cultivo orgânico de melão: aplicação de esterco e de biofertilizantes e substâncias húmicas via fertirrigação**. 2004. 73p Tese (Doutorado em Agronomia, na área de Irrigação e Drenagem). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

FERNANDÉZ-ESCOBAR, R.; BENLLOCH, M.; BARRANCO, D. **Respuesta del olivo a la aplicacion foliar de sustancias humicas procedentes de leonardita**. Córdoba: Univesidade de Córdoba, Departamento de Agronomia, 1992. 16 p. (relatório técnico).

FERRINI, F; NICESE, F. Response of English oak (*Quercus robur* L.) trees to biostimulants application in the urban environment. **Journal of Arboriculture**, Illinois, v. 28, n.2, p. 70-75, 2002.

FLAIG, W. **Contribucion al estudio de los acidos huminicos**. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Cientificas de Madrid, 1955. 171p.

FRASER, G.A.; PERCIVAL, G.C. The influence of biostimulants on growth and vitality of three urban trees species following transplanting. **Journal of Arboriculture**, Illinois, v.27, n.1, p. 43-57, 2003.

KELTING, M.P. **Effects of soil amendments and biostimulants on the post-transplant growth of landscape trees**. 1997. 58p. Thesis (PhD) - Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, 1997.

KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo: Ceres, 1985. 429 p.

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

LIU, C.H.; COOPER, R.J.; BOWMAN, D.C. Humic acid application affects photosynthesis, root development, and nutrient content of creeping bentgrass. **Hortscience**, St. Joseph, v.33, n.6, p.1023-1025, 1998.

MALAVOLTA, E. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London, San Diego: Academic press, 1995. 889p.

O'DONNELL, R. W. The auxin-like effects of humic preparations from leonardite. **Soil Science**, New Brunswick, v.116, n.2, p.106-112, 1973.

PINTO, P.A.C.; CARVALHO, A.S. **Eficiência agrônômica de ácidos húmicos e fúlvicos da leonardita aplicados na cultura da videira (*Vitis vinifera* L.) Itália**. Juazeiro: Universidade do Estado da Bahia, 2003. 19p.

RAIJ, B. van, CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A. M. C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2 ed. Campinas: IAC, 1997. 285p. (IAC. Boletim Técnico, 100).

RAIJ, B. van, ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais**. Campinas. Instituto Agrônômico, 2001. 285p.

REYNOLDS, A. G.; WARDLE, B.; DROUGHT, B.; CANTWELL, R. Gro-mate soil amendment improves growth of greenhouse-grown “Chardonnay” grapevines. **Hortscience**, St. Joseph, v.30, n.3, p.539-542, 1995.

RICHARDSON, A.D.; AIKENS, M.; BERLYN, G.P.; MARSHALL, P. Drought stress and paper birch (*Betula papyrifera*) seedlings: effects of an organic biostimulant on plant health and stress tolerance, and detection of stress effects with instrumental-based, noninvasive methods. **Journal of Arboriculture**, Illinois, v.30, n.1, p. 52-61, 2004.

ROCHA, M.C.; SILVA, A.L.B.; ALMEIDA, A.; COLLARD, F.H. Efeito do Uso de biofertilizante Agrobio sobre as características físico-químicas na pós-colheita do maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg.) no município de Taubaté. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 7, n.2, p. 1-7, 2001.

RUSSO, R.O.; BERLYN, G.P. Vitamin-humic-algal root biostimulant increases yield of green bean. **Hortscience**, St Joseph, v. 27, n.7, p. 847, 1992.

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

SANDERS, D.S.; RICOTTA, J.A.; HODGES, L. Improvement of carrot stands with plant biostimulants and fluid drilling. **Hortscience**, St. Joseph, v. 25, n.2, p. 181-183, 1990.

SANTOYO, L.F.R; GONZÁLEZ, G.A.; ESCOBAR, M.O.; ESTRADA, A.E.; HERNÁNDEZ, M.S.; GARCÍA, P.S. Fertilizacion foliar orgânica e inorganica y rendimiento de sorgo en condiciones de salinidad. **Terra**, Chapingo, v. 16, n.3, p. 205-210, 1998.

SAS Institute. **SAS/STAT user's guide. Version 8.2 for windows**. SAS Inst., Cary, 2002.

SHARIF, M.; KHATTAK, R.A.; SARIN, M.S. Effect of different levels of lignitic coal derived humic acid on growth of maize plants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.33, n.19/20, p. 3567-3580, 2002.

SILVA, L.S.; CAMARGO, F.A.O.; CERETTA, C.A. Composição da fase sólida orgânica do solo. In: MEURER, E. J. (Ed.). **Fundamentos de química do solo**. Porto Alegre: Genesis, 2000. p. 45-61.

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

TAN, K.H. **Humic matter is soil and the environment**: Principles and controversies. New York: Marcel Dekker, 2003. 386p.

TWEDDELL, R.J.; PELERIM, S.; CHABOT, R.A. two-year field study of a commercial biostimulant applied on maize as seed coating. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.80, n.4, p. 805-807, 2000.

VAUGHAN, D.; MALCOM, R.E. Influence of humic substances on biochemical process in plants. In: VAUGHAN, D.; MALCOM, R.E. (Ed.). **Soil organic matter and biological activity**, Dodrecht: Martinus Nijhoff/Junk, 1985. p. 77-108.

VIEIRA, E.L. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja (*Glycine Max. (L) Merrill*), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris L.*) e arroz (*Oryza sativa L.*) 2001. 122p. Tese (Doutorado em Agronomia, na área de Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

WEBB, P.G.; BINGS, R.H. Effects of humate amended soils on the growth of citrus. **Proceedings Florida State Horticultural Society**, Lake Alfred, n. 101,p. 23-25, 1988.

ZHANG, X.; SCHMIDT, R.E. Hormone-containing products’ impact on antioxidant status of tall fescue and creeping bentgrass subjected to drought. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 1344-1349, 2000.

ZHANG, X.; ERVIN, E.H. Physiological effects of liquid applications of a seaweed extract and a humic acid on creeping bentgrass. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v.128, n.4, p. 492-496, 2003.

3. EFEITO DE BIOESTIMULANTES EM PLANTAS DE MILHO E DE SOJA SOB ESTRESSE HÍDRICO

Resumo

O estresse hídrico é um dos mais importantes fatores ambientais que induz mudanças fisiológicas, como diminuição do potencial de água na célula e o fechamento dos estômatos, resultando na redução da disponibilidade de CO_2 na célula e comprometendo os processos fotossintéticos. Outro aspecto é o desenvolvimento de espécies reativas de oxigênio que se acumulam nas células e causam danos em importantes componentes celulares, como os tilacóides e cloroplastos. Para lidar com estas espécies reativas de oxigênio, as plantas dispõem de mecanismos enzimáticos e não enzimáticos que reduzem o estresse oxidativo. As enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) são eficientes varredores das espécies reativas de oxigênio: superóxido (O_2^-), radicais hidroxila ($\text{OH}^\cdot$) e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$). Os bioestimulantes beneficiam as atividades das enzimas antioxidantes das plantas por conterem produtos naturais, como a citocinina e ácidos húmicos em sua composição, que atuam como fitohormônios. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes bioestimulantes comerciais, aplicados em diferentes doses na atividade das enzimas SOD, CAT e APX em plantas de milho e de soja cultivadas na ausência e na presença de estresse hídrico. Além das atividades enzimáticas, também foram avaliados o teor de proteínas, o crescimento e a eficiência fotoquímica destas plantas. O experimento foi instalado em casa de vegetação da Virginia Tech Greenhouse Facility, Blacksburg, Virginia, EUA, no período de outubro a dezembro de 2005. As culturas milho cultivar 30R75 e soja cultivar P98N82 da empresa Pioneer® Sementes foram selecionadas para verificar a ação dos bioestimulantes Brotax Solo®, Naturvital®, PT4-O® e Brotax-5® no estado fisiológico da planta à tolerância ao estresse hídrico. As doses dos produtos utilizados em, L ha^{-1} , foram: Brotax Solo®: 0; 150 e 300; Naturvital®: 0, 25 e 50; PT4-O®: 0; 0.5 e 1; Brotax-5®: 0; 8 e 16; correspondentes ao controle, à dose recomendada pelo fabricante e ao dobro desta, respectivamente. Durante o período experimental as plantas foram submetidas às medições de altura e da eficiência fotoquímica uma vez por semana e, após dois meses da semeadura, foi determinada a atividade das enzimas SOD, CAT e APX, bem como quanto ao teor de proteínas. Os resultados foram analisados estatisticamente por meio de análise de variância e separação de médias a 5% de probabilidade usando o programa estatístico SAS. Nas condições de instalação e condução dos experimentos, não houve efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade de nenhum dos bioestimulantes sobre os parâmetros analisados.

Palavras-chave: bioestimulantes, estresse hídrico, *Zea mays*, *Glycine max*.

Abstract

Biostimulants sources effects on maize and soybean under drought

Water stress is one of the most important environmental factors inducing physiological changes in plants, such as decreasing in the water potential of the cells and the stomatal closure; resulting in reduced CO₂ availability for the plants and inhibiting photosynthesis. One common feature of these stress conditions is the development of oxidative processes mediated by reactive oxygen species (ROS). ROS accumulate in the cells and cause damage in important cellular components, such as thylakoids and chloroplasts. Plants have antioxidant defense systems to cope with ROS. Antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and ascorbate peroxidase (APX) are efficient scavengers of ROS: superoxide (O₂⁻), hydroxyl radicals (OH⁻), and singlet oxygen (¹O₂⁻). Biostimulants improve activities of plant antioxidant enzymes because they contain cytokinin and humic acids. The aim of this research was to evaluate the effect of commercial biostimulants Brotax Solo®, Naturvital®, PT4-O® and Brotax-5®, applied at different rates, on the activity of enzymes SOD, CAT, and APX in maize and soybean plants grown under well-watered or drought stress conditions. Protein content, growth, and photochemical efficiency of the plants were also evaluated. Pot experiment was conducted in a greenhouse located at Virginia Tech Greenhouse Facility, Blacksburg, Virginia, US, from October to December 2005. Maize cultivar 30R75 and soybean P98N82 of Pioneer® Seeds were utilized in this research. The applied doses, in L ha⁻¹, were: Brotax Solo®: 0; 150 and 300; Naturvital®: 0, 25 and 50; PT4-O®: 0; 0.5 and 1; Brotax-5®: 0; 8 and 16; corresponding to control, recommended dose by manufacturer and 100% higher than this, respectively. Plants were subjected to height and photochemical efficiency measurements once a week. Two months after seeding, enzyme activities (SOD, CAT and APX) as well as protein content were determined. The results were subjected to ANOVA and separation of means was performed with a protected LSD test at 5% probability level by SAS. In the experimental conditions of this research, there was no effect of the biostimulants on the parameters evaluated.

Key words: biostimulants, drought stress, *Zea mays*, *Glycine max*.

3.1 Introdução

A disponibilidade de água é um dos mais importantes fatores ambientais para o crescimento e desenvolvimento das plantas. O déficit hídrico causado pela seca ou salinidade nos solos é um dos problemas ambientais mais sérios que limita a produção agrícola em várias regiões do mundo. Taiz e Zeiger (2002) definem déficit hídrico como sendo todo conteúdo de água na célula que está abaixo do conteúdo de água mais alto exibido no estado de maior hidratação.

As plantas experimentam o déficit hídrico quando o suprimento de água às raízes se torna difícil ou quando a taxa de evapotranspiração se torna muito alta. Estas duas condições geralmente coincidem em regiões que apresentam clima árido e semi-árido e afetam as plantas em maior ou menor grau de acordo com a tolerância que as espécies apresentam (REDDY et al., 2004).

As plantas respondem ao estresse hídrico dependendo do estágio em que se encontram, bem como da severidade e duração do mesmo. A adaptação e a aclimação ao estresse ambiental resultam de eventos integrados que ocorrem em todos os níveis de organização, desde o anatômico e morfológico até o celular, bioquímico e molecular. O murchamento de folhas em resposta ao déficit hídrico reduz a perda de água pela folha e também a exposição à luz incidente, diminuindo, assim, o estresse pelo calor sobre as folhas (TAIZ e ZEIGER, 2002).

Ao nível celular, as membranas e proteínas podem ser danificadas pela redução na hidratação e pelo aumento de espécies reativas de oxigênio (ARTLIP e WISNIEWSKI, 2002). As espécies reativas de oxigênio são tóxicas e podem resultar em uma série de danos ao metabolismo da planta, tais como deterioração dos componentes fotossintéticos, inativação de proteínas e enzimas e destruição da estrutura e da permeabilidade da membrana celular pela peroxidação dos lipídios (PRICE e HENDRY, 1989, ZHANG e ERVIN, 2004).

Os antioxidantes e seu papel no sistema de defesa das plantas têm recebido muita atenção em pesquisas científicas. Muitos resultados sugerem que os efeitos de estresses ambientais, tais como salinidade, seca, baixas temperaturas e resíduos de herbicidas, danificam as plantas direta ou indiretamente por meio do aumento das espécies reativas de oxigênio endógenas (SMIRNOFF, 1993; ZHANG, 1997).

As células das plantas são protegidas contra os efeitos danosos das espécies reativas de oxigênio (ROS) por um complexo sistema antioxidante composto por antioxidantes enzimáticos, tais como: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (NOCTOR e FOYER, 1998). A relação íntima entre a atividade antioxidante e a tolerância ao estresse tem sido identificada em muitas culturas, como milho (*Zea Mays* L.) (MALAN et al., 1990), tabaco (*Nicotiana tabacum*) (PERL et al., 1993) e gramíneas (ZHANG et al, 2005; ZHANG e ERVIN, 2004; ZHANG e SCHMIDT, 2000)

Os ácidos húmicos têm sido usados na composição de muitos produtos comerciais por apresentarem fitohormônios (O'DONNELL, 1973) que favorecem a proteção contra os danos oxidativos nas plantas causados pelos estresses ambientais. Assim, tem sido enfatizado o uso de bioestimulantes na agricultura, que são produtos que contêm princípio ativo ou agente orgânico isento de substâncias agrotóxicas, capaz de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, elevando a sua produtividade (KELTING, 1997).

Os componentes dos bioestimulantes podem alterar o status hormonal da planta e ter grande influência no seu desenvolvimento e saúde. Algas marinhas, ácidos húmicos e vitaminas estão comumente presentes nos bioestimulantes e são importantes na melhoria do desenvolvimento das plantas e da atividade hormonal (KARNOK, 2000; MALAN et al., 1990). Além disso, estes produtos aumentam a atividade antioxidante nas plantas, especialmente quando elas estão sob estresse hídrico, temperaturas severas e ação de herbicidas, dentre outros (ZHANG e SCHMIDT, 2000).

Vários trabalhos têm mostrado resultados na melhoria da resistência das plantas ao estresse hídrico quando são submetidas à aplicação de bioestimulantes. Os níveis das atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) têm sido determinados e, de maneira geral, aumentam com o uso de bioestimulantes (ZHANG e ERVIN, 2004; ZHANG e SCHMIDT, 1999). Outro parâmetro que tem sido melhorado na planta com a aplicação de bioestimulantes é a eficiência fotoquímica (RICHARDSON et al., 2004).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos de bioestimulantes em plantas de milho e de soja, submetidas à presença e à ausência de déficit hídrico, por meio de determinações das atividades dos antioxidantes enzimáticos (SOD, CAT e APX), da eficiência fotoquímica e do crescimento das plantas.

3.2 Revisão Bibliográfica

3.2.1 Uso de bioestimulantes em plantas

Os bioestimulantes são componentes que produzem respostas no crescimento das plantas através da melhoria da tolerância aos estresses abióticos. Muitos dos efeitos destes produtos são baseados na sua habilidade de influenciar a atividade hormonal das plantas. Os fitohormônios são mensageiros químicos que regulam o desenvolvimento normal das plantas pelo crescimento de raízes e parte aérea, além de regularem as respostas ao ambiente onde elas se encontram (LONG, 2006).

Os bioestimulantes e as substâncias húmicas têm mostrado influência em muitos processos metabólicos nas plantas, tais como: respiração, fotossíntese, síntese de ácidos nucleicos e absorção de íons. Dentro da célula, as substâncias húmicas podem aumentar o conteúdo de clorofila resultando folhas mais verdes e redução de alguns problemas nas plantas, como clorose das folhas, uma vez que as substâncias húmicas melhoram a capacidade de absorção de nutrientes pelas raízes (HAMZA e SUGGARS, 2001).

Os componentes dos bioestimulantes podem alterar o status hormonal da planta e ter grande influência no seu crescimento e saúde. Algas marinhas, ácidos húmicos e vitaminas estão comumente presentes nos bioestimulantes e são importantes na melhoria do desenvolvimento das plantas e da atividade hormonal (KARNOK, 2000; MALAN et al., 1990). Além disso, estes produtos aumentam a atividade antioxidante nas plantas, especialmente quando elas estão sob estresse hídrico, temperaturas severas e ação de herbicidas, dentre outros (ZHANG e SCHMIDT, 2000).

Quando as plantas estão sob estresse, os radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (superóxido, radicais hidroxila, peróxido de hidrogênio) danificam as células das plantas e os antioxidantes diminuem a toxicidade destes radicais. Plantas com altos níveis de antioxidantes produzem melhor crescimento radicular e de parte aérea, mantendo um alto conteúdo de água nas folhas e baixa incidência de doenças, tanto quando elas estão sob condições ideais de cultivo quanto sob estresse ambiental. A aplicação de bioestimulantes aumenta o sistema de defesa da planta por incrementar o seu nível de antioxidantes (HAMZA e SUGGARS, 2001).

As plantas geralmente se desenvolvem bem quando o meio está favorável. Sob estas condições, os efeitos dos bioestimulantes podem não ser facilmente identificados. Entretanto,

quando as plantas estão estressadas e são submetidas ao tratamento com bioestimulantes, elas se desenvolvem melhor, pois seu sistema de defesa se torna mais eficiente devido ao incremento nos seus níveis de antioxidantes (KARNOK, 2000).

Em estudo conduzido por Liu e Cooper (2000), as substâncias húmicas mostraram aumento na atividade enzimática de raízes apesar de não terem produzido melhora na qualidade visual e no aumento da matéria seca de creeping bentgrass (*Agrostis palustris*). Os autores observaram um significativo aumento de raízes de creeping bentgrass (*Agrostis palustris*) cultivada em solução de nutrientes de Hoagland tratada com ácidos húmicos. De acordo com estes autores, a aplicação destes produtos ao solo resulta em melhores resultados do que em aplicações foliares.

Hartwigsen e Evans (2000) avaliaram os efeitos de ácidos húmicos na germinação de sementes de gerânios (*Pelargonium hortorum*) e calêndula (*Tagetes patula* L.) e no desenvolvimento de raízes destas plantas tratadas com solução nutritiva e com ácidos húmicos. De acordo com estes autores, a massa de raízes frescas das plantas tratadas com ácidos húmicos aumentou significativamente em relação às plantas tratadas apenas com solução nutritiva, sugerindo que os ácidos húmicos afetaram a absorção de nutrientes.

O crescimento de raízes e o fluxo de seiva de árvores bordo (*Genus Acer*), transplantadas e submetidas a aplicações de três diferentes formulações de bioestimulantes com substâncias húmicas foram estudados por Kelting et al. (1998). Não foi encontrada diferença estatística na massa de matéria seca de raízes das plantas tratadas quando comparadas com as plantas controle, nem houve diferenças visuais no crescimento ou no tamanho de capilares, embora o fluxo de seiva tenha aumentado significativamente.

Muitas afirmações sobre bioestimulantes também se referem às melhorias que eles proporcionam na tolerância dos gramados ao estresse hídrico, fator limitante em manejo desta cultura. O estresse hídrico afeta muitas funções metabólicas nas plantas, especificamente a fotossíntese (HAMZA e SUGGARS, 2001; ZHANG et al., 2003).

Zhang e Schmidt (2000) concluíram que os ácidos húmicos melhoram o crescimento radicular e da parte aérea pelo aumento das concentrações de antioxidantes em tall fescue (*Festuca arundinacea*) e creeping bentgrass (*Agrostis palustris*) cultivadas em condições de baixa disponibilidade hídrica. Os autores ainda afirmam que aplicações exógenas de extratos de algas

marinhas juntamente com ácidos húmicos promovem o crescimento radicular e da parte aérea por meio da ação de antioxidantes nas plantas sob condições de estresse hídrico.

3.2.2 Estresse Hídrico nas Plantas

A disponibilidade de água é um dos mais limitantes fatores ambientais que afetam a produtividade das culturas. Nos trópicos semi-áridos, a ocorrência de seca ou déficit hídrico no solo é bastante comum, apesar de as culturas em regiões de clima tropical e temperado sofrerem períodos sazonais de déficit hídrico, especialmente durante o verão (LEVIT, 1980).

Algumas das primeiras respostas das plantas ao estresse parecem ser mediadas por eventos biofísicos, ao invés de mudanças em reações químicas resultantes da desidratação. O fechamento dos estômatos, a redução da fotossíntese e os ajustes osmóticos são as respostas de algumas plantas ao primeiro estágio de déficit hídrico (LAWLOR, 1995). Como o conteúdo de água da planta diminui, as células encolhem e as paredes celulares relaxam. Com isso, os solutos aumentam sua concentração nas células e a membrana plasmática se torna espessa e mais comprimida, como se cobrisse uma área menor do que antes (TAIZ e ZEIGER, 2002). A expansão celular ocorre quando a pressão de turgor é maior do que o crescimento da parede celular. O estresse hídrico diminui muito a expansão celular e o crescimento da planta devido à baixa pressão de turgor (MCKERSIE e LESHEM, 1994).

Os estômatos fornecem o principal mecanismo de controle da taxa de perda de água. Contudo, o local de perda de água é também o local de ganho de carbono pela planta, então, uma redução na perda de água pelo controle estomatal também resulta numa redução na assimilação com conseqüentes efeitos na produtividade e na acumulação de espécies reativas de oxigênio (JONES et al., 1981). Estas respostas atrapalham o suprimento de CO₂ para a fotossíntese e expõem os cloroplastos ao excesso de excitação de energia, especialmente sob intensidade alta de luz (LAWLOR, 1995).

Os baixos potenciais no solo e na planta inibem o seu crescimento, reduzem as atividades de desenvolvimento das células e tecidos, diminuem a absorção de nutrientes e causam modificações morfológicas e bioquímicas (DUBEY e PESSARAKLI, 2002). Para manter a absorção de água, as raízes têm que crescer mais profundamente ou aumentar sua densidade.

Uma característica de espécies resistentes à seca é que elas têm uma larga proporção de sua massa total composta por raízes e um hábito de enraizamento profundo.

Uma relação raiz/parte aérea alta não indica por si só grande habilidade em absorver água: a deficiência hídrica invariavelmente aumenta a relação raiz/parte aérea, mas isto ocorre devido à perda de massa de parte aérea da planta sem perda de massa de raízes. Entretanto, há evidências de que possa ocorrer absoluto aumento na matéria seca de raízes para muitas espécies (TURNER, 1979).

A fotossíntese é a força motriz da produtividade da planta. A habilidade para manter a taxa de dióxido de carbono fotossintético e a assimilação de nitrato sob estresses ambientais é fundamental para a manutenção de crescimento e produção da planta (LAWLOR, 1995). É sabido que quando o estresse hídrico se torna extremo, os fatores não-estomatais podem se tornar ainda mais limitantes para a fotossíntese (RICHARDSON et al., 2004).

O déficit hídrico freqüentemente diminui o número de fótons capturados pelas folhas porque folhas murchas estão a um ângulo mais agudo com relação aos raios solares. As mudanças nas características da absorção das folhas ocorrem devido ao encolhimento das células. Contudo, as mudanças nos cloroplastos e no tilacóide durante a captura da luz e nos centros de transferência de energia são relativamente pequenas (LAWLOR, 1995).

3.2.3 Espécies de Oxigênio Reativas e Estresse Hídrico

As moléculas de oxigênio diatômico (O_2) na atmosfera terrestre são as maiores promotoras de reações nas células. Exceto aqueles organismos que são especialmente adaptados para viver sob condições anaeróbicas, todos os animais e plantas requerem oxigênio para uma eficiente produção de energia (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1989).

Os organismos aeróbios usam o oxigênio diatômico como receptor terminal de elétrons, fornecendo um alto campo de energia comparado com a fermentação e respiração anaeróbia. Neste estágio-base, o oxigênio molecular é relativamente não-reativo, porém é capaz de dar origem a estados excitados reativos e letais, como os radicais livres e seus derivados (PERL-TREVES e PERL, 2002).

O superóxido, produzido pelo transporte de elétrons para o oxigênio, não é compatível com metabolismo celular; daí todos os organismos que estão envolvidos em ambientes aeróbios

devem possuir um mecanismo eficiente capaz de remover ou neutralizar os radicais livres dos componentes celulares. O equilíbrio entre as capacidades oxidativa e antioxidante determina o destino da planta (NAVARI-IZZO e RASCIO, 1999). Sem este mecanismo de defesa, as plantas podem não converter eficientemente a energia solar em energia química (SCANDALIOS, 1993).

A formação de espécies reativas de oxigênio se dá primeiramente pelo radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), que pode ser dismutado em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ou mesmo através de ação catalítica, pela atuação da enzima superóxido dismutase (SOD). Os sistemas antioxidantes nas plantas atuam como mecanismos de resistência aos estresses por protegerem as membranas contra danos causados por estas espécies de oxigênio produzidas sob condições de estresses ambientais e xenobióticos (MALAN et al., 1990).

O destino das células sob ambientes estressantes é determinado pela duração do estresse, bem como pela capacidade de proteção da planta. As espécies reativas de oxigênio assumem um papel crucial em causar danos celulares nas plantas sob estresse. A seqüência de eventos nos tecidos vegetais submetidos a estresse é: aumento da produção de espécies reativas de oxigênio; aumento nos níveis de antioxidantes; aumento na capacidade de “varredura” das espécies reativas de oxigênio, resultando na tolerância da planta contra o estresse hídrico (MANO, 2002).

Os mecanismos de desintoxicação das espécies reativas de oxigênio existem em todas as plantas e podem ser categorizados em enzimáticos (superóxido dismutase – SOD; catalase – CAT; ascorbato peroxidase – APX, dentre outros) e não enzimáticos (carotenóides, ácido ascórbico, dentre outros). O grau em que a quantidade e as atividades das enzimas antioxidantes aumentam sob estresse hídrico é extremamente variável entre muitas espécies de plantas e até mesmo entre dois cultivares de uma mesma espécie. O nível de resposta depende da espécie, do desenvolvimento da planta, bem como da duração e intensidade do estresse (MANO, 2002).

O superóxido produzido pelo tilacóide pode espontaneamente ser dismutado em oxigênio molecular e em peróxido de hidrogênio. Nos cloroplastos, esta reação é catalizada enzimaticamente via dismutase do superóxido (SOD). Os cloroplastos também contêm grandes quantidades de ácido ascórbico, que pode reduzir eficientemente o superóxido a peróxido de hidrogênio via ascorbato peroxidase (FOYER, 2002).

As plantas apresentam a enzima superóxido dismutase contendo Cu e Zn, Fe ou Mn como metais prostéticos. O Zn é encontrado na superóxido dismutase presente nos cloroplastos e no

citossol, enquanto que o Mn é encontrado na superóxido dismutase das mitocôndrias e o Fe na superóxido dismutase presente nos cloroplastos e nas mitocôndrias (ZHANG, 1997).

As espécies reativas de oxigênio podem reagir com ácidos graxos insaturados, causando a peroxidação de membranas lipídicas essenciais no plasmalema ou em organelas intracelulares (SCANDALIOS, 1993). Os danos causados pela peroxidação do plasmalema levam ao extravasamento do conteúdo celular e à rápida dissecação e morte celular. A membrana intracelular danificada afeta a atividade respiratória na mitocôndria, além de causar a despigmentação e a perda da habilidade de fixação de carbono nos cloroplastos (MALAN et al., 1990).

Sob condições normais, os sistemas antioxidantes eliminam ou diminuem a reação do oxigênio reativo, impedindo a transformação em produtos mais tóxicos para as células. As células fotossintéticas podem tolerar níveis elevados de oxigênio porque os mecanismos endógenos varrem e removem os produtos tóxicos antes de os danos às células ocorrerem (NAVARI-IZZO e RASCIO, 1999). Contudo, os danos oxidativos são evidentes sob condições onde a taxa de produção de espécies reativas de oxigênio é alta e a habilidade de remoção é baixa (ASADA e TAKAHASHI, 1987).

As condições de estresse hídrico podem desencadear aumento na produção de formas de oxigênio reativo, que pode explicar os danos nos cloroplastos, nos lipídios, nas proteínas e na alteração da integridade estrutural das membranas celulares. Durante a redução de água no interior da planta, o radical superóxido ($O_2^{\bullet}$) também pode reagir não enzimaticamente com o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), dando origem a produtos, tais como radicais hidroxila ($OH^{\bullet}$) e oxigênio singleto ($^1O_2$), que são mais reativos que o radical superóxido ($O_2^{\bullet}$) (NAVARI-IZZO e RASCIO, 1999).

Embora uma série de mecanismos reguladores tenha sido evoluída dentro da célula da planta para limitar a produção destas moléculas tóxicas, os danos oxidativos continuam sendo um problema potencial, uma vez que causam perturbações no metabolismo, como a perda de coordenação entre os processos de produção (fonte) e de utilização de energia (dreno) durante a fotossíntese em folhas verdes sob ambientes estressantes (REDDY et al., 2004).

3.2.4 Espécies Reativas de Oxigênio e Fotossíntese

A fotossíntese permite que as plantas usem a luz solar para gerar açúcares a partir do CO_2 via ciclo de Calvin. A oxidação da água fornece os elétrons consumidos na síntese de açúcares, produzindo o oxigênio diatômico (O_2) como subproduto. Muito desse oxigênio diatômico difunde-se passivamente pela folha através dos estômatos. Durante a iluminação, entretanto, as células fotossintéticas podem possuir altas concentrações de oxigênio diatômico que fazem os cloroplastos excepcionalmente susceptíveis aos danos oxidativos (LOGAN, 2005).

A fotossíntese produz espécies reativas de oxigênio como superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radicais hidroxila ($\text{OH}^{\bullet}$) e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) (ASADA e TAKAHASHI, 1987). Oxigênio singlete e radical hidroxila podem causar grandes danos nas membranas e formar peróxidos lipídicos derivados de ácidos graxos polinsaturados. O peróxido de hidrogênio é o mais potente inibidor da assimilação do CO_2 fotossintético. Nas células das plantas, o peróxido de hidrogênio é destruído pela ação da catalase (CAT) e/ou ascorbato peroxidase (APX) (FOYER, 2002).

Os ajustes climáticos na morfologia da folha e os constituintes que compõem o mecanismo fotossintético preservam o balanço entre a absorção de luz e o uso da luz fotossintética, limitando, assim, a absorção de problemáticos excessos de luz. Estes mecanismos fotoprotetores incluem dissipação de energia térmica, que seguramente elimina o excesso de luz ao convertê-la em calor, e também antioxição via uma complexa coleção de enzimas e moléculas redox, que convertem superóxido em água (LOGAN, 2005).

As condições de estresse podem bloquear o transporte de elétrons fotossintéticos resultando no aumento da perda da energia luminosa absorvida via fluorescência da clorofila (LINCHTENTHALER, 1988). Sob condições fotossintéticas normais, quando não há estresse aplicado às plantas, a luz absorvida é primeiramente usada para a fotossíntese, enquanto que apenas uma pequena porção é transformada em aquecimento ou em fluorescência da clorofila (RINDERLE e LINCHTENTHALER, 1988).

A fluorescência da clorofila pode ser considerada uma sonda intrínseca da fluorescência do sistema fotossintético nos cloroplastos (LINCHTENTHALER, 1988). De um modo geral, a fluorescência da clorofila está inversamente relacionada à fotossíntese. O balanço relativo entre os três maiores mecanismos – fotossíntese, aquecimento e emissão fluorescente – determina o

atual padrão de resposta observada na fluorescência da clorofila. Como os processos fotossintéticos são muito sensíveis a estresses, a fluorescência da clorofila tem se tornado uma ferramenta útil para detectar uma variedade de efeitos causados pelo estresse e recuperação em muitas espécies (MOHAMMED et al., 2003).

A emissão fluorescente pela clorofila dos fotossistemas possibilita conduzir metodologias não destrutivas para examinar eventos fotoquímicos no processo de fotossíntese e monitorar as funções do aparato fotossintético e até mesmo o estado antioxidante da planta, especialmente quando elas estão crescendo sob estresse (LINCHTENTHALER, 1988).

3.3 Material e métodos

Este estudo foi conduzido em casa de vegetação da Virginia Tech Greenhouse Facility, da Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, (37°12'58"N, 80°25'26"W), no Estado da Virginia, EUA, no período de outubro a dezembro de 2005. As culturas milho cultivar 30R75 e soja cultivar P98N82 da empresa Pioneer® Sementes foram selecionadas para verificar a ação de bioestimulantes sobre o estado fisiológico das plantas submetidas ao estresse hídrico.

Os bioestimulantes utilizados nos ensaios foram bioestimulantes produzidos pelas empresas PROVASO (Brotax Solo® e Brotax-5®), DAYMSA (Naturvital®) e LBE Biotecnologia (PT4-O®), cujas caracterizações encontram-se nas Tabelas 3.1 e 3.2. As matérias-primas destes produtos são resíduos de cana-de-açúcar curtidos (Brotax Solo®, Brotax 5® e PT4-O®) e leonardita (Naturvital®).

Tabela 3.1 – Caracterização química dos bioestimulantes utilizados nos experimentos

Parâmetro	Bioestimulantes			
	Brotax Solo ®	Brotax-5 ®	PT4-O ®	Naturvital 25 ®
pH	4,7	5,6	1,50	13,0
N total (g L ⁻¹)	98,0	138,2	14,0	4,6
P ₂ O ₅ total (g L ⁻¹)	19,4	2,0	233,8	0,06
K ₂ O (g L ⁻¹)	22,0	23,0	5,6	63,0
Ca (g L ⁻¹)	0,40	0,32	0,41	4,9
Mg (g L ⁻¹)	1,1	0,33	0,7	1,9
S (g L ⁻¹)	52,1	26,8	1,1	10,1
Cu (mg dm ⁻³)	47,0	15,0	3,0	2,0
Fe (mg dm ⁻³)	360,0	261,0	162,0	1890,0
Mn (mg dm ⁻³)	235,0	12,0	7,0	18,0
Zn (mg dm ⁻³)	98,0	1100,0	6000,0	6,0
Matéria Orgânica (g L ⁻¹)	384,6	343,2	145,5	102,5
Carbono total (g L ⁻¹)	213,7	190,6	80,8	56,9
Ácido húmico (g L ⁻¹)	71,3	58,6	N.D. [†]	163,6
Ácido fúlvico (g L ⁻¹)	120,3	114,7	185,4	84,3
Relação C/N	2/1	1/1	6/1	13/1
Densidade (g mL ⁻¹)	1,25	1,25	1,24	1,16

[†] N.D. = não detectável

A caracterização química dos produtos foi realizada no Departamento de Ciência do Solo da ESALQ – USP e no Instituto de Química de São Carlos – USP. As determinações dos aminoácidos presentes nos bioestimulantes (Tabela 3.2) foram realizadas no laboratório LABTEC, em Campinas, SP.

Tabela 3.2 – Aminograma dos bioestimulantes utilizados no experimento

Aminoácido	Bioestimulantes			
	Brotax Solo ®	Naturvital 25 ®	PT4-O ®	Brotax-5 ®
	----- (%) -----			
Alanina	0,74	ND	0,28	1,20
Arginina	0,17	ND	0,58	1,29
Ácido aspártico	1,34	ND	0,78	0,71
Glicina	0,20	ND	0,18	2,13
Isoleucina	0,14	ND	0,41	0,19
Leucina	0,22	ND	0,65	0,33
Ácido glutâmico	3,10	ND	1,19	2,38
Lisina	0,16	ND	0,37	0,35
Tirosina	ND	ND	0,27	ND
Cistina	0,02	ND	ND	0,09
Metionina	ND	ND	0,05	0,08
Fenilalanina	0,12	ND	0,42	0,25
Treolina	0,24	ND	0,25	0,17
Prolina	ND	ND	0,43	1,26
Valina	0,18	ND	0,41	0,37
Histidina	0,06	ND	0,17	0,07
Serina	0,15	ND	0,27	0,28

[†] ND= não detectável

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente aleatorizado seguindo um esquema fatorial 3x2 com três repetições: três doses do produto na ausência ou presença de estresse hídrico, totalizando 18 parcelas experimentais para cada produto e cultura.

O experimento foi conduzido em vasos de quatro litros e meio, onde foram acondicionadas amostras de Argissolo (Typic hapludult) da camada 0-20 cm, cuja caracterização química e física encontra-se na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 – Caracterização química e física do solo utilizado no experimento

pH	K	Ca	Mg	V	P	Cu	Zn	Mn	Fe	B	areia	silte	argila
H ₂ O													
	-- mmol _c dm ⁻³ --			%	-----mg dm ⁻³ -----						----- g kg ⁻¹ -----		
5,7	1,9	15,6	5,5	81,5	34,1	0,1	2,1	9,0	8,7	0,3	630	290	80

Todos os vasos receberam a mesma quantidade de adubos e de calcário segundo as diretrizes da Virginia Cooperative Extension (VCE) (MULLINS e HECKENDORN, 2005). Para

isto, foram adicionados 0,04 mg dm⁻³ de N ((NH₄)₂SO₄ com 46% N); 0,03 mg dm⁻³ de K (KCl com 49,6% K₂O); 0,02 mg dm⁻³ de P (superfosfato simples com 46% P₂O₅) e 0,42 mg dm⁻³ de calcário calcítico.

Após a realização da adubação mineral, foi efetuada a semeadura utilizando-se dez sementes por vaso e deixando-se duas plantas por vaso após o desbaste.

Os produtos foram diluídos em água obedecendo às doses estabelecidas e aplicados ao solo vinte e um dias depois da semeadura. Para a aplicação nos vasos, as doses de campo foram calculadas com base na quantidade de plantas de cada cultura por hectare e depois relacionadas para duas plantas por vaso. Como as doses apresentavam baixos volumes a serem aplicados por vaso, foi adotado o seguinte critério de aplicação: cada vaso recebeu 100 mL da diluição feita com cada produto, de forma a possibilitar que o solo recebesse as quantidades dos produtos adotadas neste estudo de forma mais homogênea possível.

A primeira aplicação foi feita ao solo 21 dias após a semeadura e a segunda ocorreu após um intervalo de quatro semanas da primeira aplicação. As doses utilizadas encontram-se na Tabela 3.4. Os tratamentos 1 e 2 corresponderam à dose recomendada pelos fabricantes e uma dose 100% maior do que esta, respectivamente.

Tabela 3.4 – Doses dos bioestimulantes utilizados no experimento

Bioestimulante	Doses						
	Controle	Tratamento 1				Tratamento 2	
		milho		soja		milho	
		L ha ⁻¹	--- mL/vaso ---	L ha ⁻¹	--- mL/vaso ---	L ha ⁻¹	--- mL/vaso ---
Brotax Solo ®	0	150	5,0	1,2	300	10,0	2,4
Brotax-5 ®	0	8	0,3	0,06	16	0,6	0,12
Naturvital 25 ®	0	25	0,8	0,2	50	1,6	0,4
PT4-O ®	0	0,5	0,02	0,004	1	0,04	0,008

Dois dias após a primeira aplicação dos produtos, as plantas foram separadas em dois grupos. No grupo “não estressadas” as terras dos vasos foram mantidas com umidade de 90% da capacidade de retenção de água durante todo o experimento, enquanto que as terras do grupo “estressadas” foram mantidas com umidade referente a 50% da capacidade de retenção de água. A umidade do solo foi controlada por pesagens diárias dos vasos e também por monitoramento com sensor de umidade Theta Probe (Type mL1, Delta-T devices Ltd, Cambridge, UK).

A atividade de auxina nos bioestimulantes foi avaliada utilizando-se uma versão modificada do Avena Coleoptile Straight Segment Growth Bioassay, delineado por Yopp (1986). Resumidamente, sementes de aveia foram imersas em uma solução de hipoclorito de sódio a 2% por 5 minutos e depois enxaguadas com água por 1 hora. As sementes foram imersas por duas horas em água destilada e então colocadas em uma bandeja coberta com lenço de papel umedecido em água destilada e suportada por uma grade de 1,5 cm de altura situada acima de uma bandeja contendo uma lâmina de 1 cm de água destilada, cuja finalidade era manter o ambiente úmido. Em seguida, as sementes foram incubadas em uma câmara a 23°C, contendo uma fonte de luz vermelha a uma altura de 30 cm, por 20 horas e, posteriormente, por mais 80 a 90 horas a 25°C, ocasião em que os coleóptilos alcançaram 20 mm de comprimento.

Sob luz verde, foram cortados três milímetros de cada coleóptilo a partir da ponta e em seguida dois segmentos de 5 mm, os quais foram transferidos para placas de Petri de 5 cm de diâmetro. Foram postos seis segmentos por placa. As placas receberam 5,6 mL de fosfato de potássio (5 mM, pH 4,8), ácido cítrico (2,5 mM) e em seguida 560 µL do bioestimulante. Foram preparadas duas placas para cada bioestimulante, a título de repetição.

Para desenvolver a curva padrão, uma série de concentrações (0, 10, 25, 50, 75, 100 µL) de solução estoque de auxina (1 mg L⁻¹) foram adicionadas a cada placa. Após 30 horas de incubação, o comprimento dos segmentos foi medido e as concentrações de auxina em cada amostra dos bioestimulantes foram calculadas baseadas na curva padrão. Os resultados estão apresentados na Tabela 3.5.

A eficiência fotoquímica (Fv/Fm) foi determinada nas plantas por medições da fluorescência da clorofila com fluorímetro de duplo comprimento de onda (OS-50, Opti-Sci. Inc., MA). A proporção da fluorescência variável para a máxima fluorescência no comprimento de onda 690 nm (Fv690nm/Fm690nm) é um indicador da eficiência fotoquímica do fotossistema II (ZHANG et al, 2003). A fluorescência da clorofila foi medida uma vez por semana sempre no mesmo horário nas folhas maduras e em crescimento ativo. Cada leitura consistiu de uma média de três medições por vaso.

Para avaliar o crescimento das plantas e sua reação ao estresse hídrico ao qual foram submetidas, foram feitas medições de altura uma vez por semana e observações diárias com o objetivo de assegurar que a umidade das terras (50% da capacidade de retenção de água) estava causando déficit hídrico, avaliado pela ocorrência de sinais típicos, como enrolamento das folhas.

As amostras de folhas para determinação da atividade enzimática foram coletadas de cada vaso em três diferentes datas: um dia antes da primeira aplicação dos bioestimulantes (20 dias após a semeadura), um dia antes da segunda aplicação (41 dias após a semeadura) e no final do período experimental, a saber, 61 e 67 dias após a semeadura, respectivamente, para as plantas de milho e de soja.

As amostras foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e em seguida armazenadas a -80°C . As amostras congeladas (0,25 g) foram maceradas em nitrogênio líquido e extraídas em um almofariz com 4 mL de solução tampão 0,05 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$, (pH 7,0) contendo 0,2 mM de ETDA e 1% de polivinilpirrolidone (PVP). As suspensões foram centrifugadas a 4°C por 20 minutos a 15000 gravidades (ZHANG, 2005, comunicação pessoal). Os sobrenadantes foram coletados e usados para a determinação das atividades do superóxido dismutase (GIANNOPOLITIS e RIES, 1977), do ascorbato peroxidase (NAKANO e ASADA, 1981) e da catalase (CHANCE e MAEHLY, 1955). Como as atividades das enzimas antioxidantes são apresentadas com base na concentração de proteínas, foi usado o método de Smith (1985) para determinação do conteúdo de proteínas solúveis das amostras.

Uma unidade da atividade de superóxido dismutase (SOD) foi definida como a quantidade de enzima necessária para causar 50% de inibição da taxa da redução de nitro blue tetrazolium medida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 560 nm (GIANNOPOLITIS e RIES, 1977). A unidade da atividade de ascorbato peroxidase (APX) foi definida pela mudança de 0,1 unidade de absorbância por minuto a um comprimento de onda de 290 nm (NAKANO e ASADA, 1981). A decomposição de H_2O_2 determinada pela atividade de catalase (CAT) foi medida seguindo uma mudança de 0,01 unidade de absorbância por minuto a 240 nm de comprimento de onda (CHANCE e MAEHLY, 1955).

As plantas foram cortadas no final do período experimental e as raízes lavadas para remoção da terra. A parte aérea e as raízes foram secas em estufa a 60°C por 72 horas antes de serem pesadas.

As análises estatísticas foram feitas por meio do SAS versão 8.2 (SAS INST., 2002) utilizando a análise de variância (ANOVA) e a separação de médias pela diferença mínima significativa (LSD) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

3.4 Resultados e Discussão

3.4.1 Conteúdo de Auxina nos Produtos

Os resultados obtidos pelo Avena Coleoptile Straight Segment Growth Bioassay para atividade de auxina nos bioestimulantes encontram-se na Tabela 3.5. Este é um teste padrão para determinação da atividade de auxina de bioestimulantes. Os resultados foram comparados com uma curva padrão usada para predizer o conteúdo de auxina (YOPP, 1986).

Tabela 3.5 – Conteúdo de auxina estimada da fração de ácido húmico presente nos bioestimulantes analisados pelo Avena Coleoptile Straight Segment Growth Bioassay

Bioestimulante	Teor de auxina
	ng
Brotax Solo ®	1,22
Naturvital 25 ®	N.D. [†]
PT4-O ®	N.D.
Brotax-5 ®	N.D.

[†] N.D.= não detectável

Apenas o produto Brotax Solo® apresentou teor detectável de auxina, a qual ocorreu, em sua maior parte, dentro da fração de ácido húmico. Os produtos apresentaram baixa quantidade de ácido húmico em suas composições (Tabela 3.1) e, provavelmente, esta quantidade não é suficiente para permitir a quantificação do conteúdo de auxina por meio deste método. Os níveis de auxina requeridos para regulação de processos metabólicos nas plantas, como aumento do crescimento radicular e estimulação das atividades enzimáticas, variam entre as ordens de nanogramas (10^{-9} g) a microgramas (10^{-6} g) (ZHANG et al., 2005).

3.4.2 Atividades do superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) em plantas de milho e de soja antes da aplicação dos tratamentos

Amostras de folhas foram coletadas antes da aplicação dos tratamentos (20 dias após a semeadura) para quantificação das atividades do superóxido dismutase (SOD), ascorbato

peroxidase (APX) e catalase (CAT) nas plantas de milho e de soja. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 3.6.

Tabela 3.6 – Atividades de superóxido dismutase (SOD), de ascorbato peroxidase (APX) e de catalase (CAT) e teor de proteínas nas plantas de milho e soja antes da aplicação dos tratamentos

Cultura	SOD	APX	CAT	Proteína
	-----	unidade mg^{-1} proteína	-----	$\mu\text{g mL}^{-1}$
Milho	1,72	7,44	206,8	171,2
Soja	1,79	38,09	341,68	249,4

Estes valores podem ser estatisticamente comparados com os valores medidos nas amostras coletadas quatro semanas após a primeira aplicação e no final do período experimental (Tabelas 7, 8, 17, 18, 27, 28, 37 e 38 do apêndice) para avaliar os efeitos dos tratamentos aplicados neste estudo.

A atividade das enzimas antioxidantes nas plantas são normalmente favorecidas quando elas são submetidas a algum tipo de melhoramento nas condições em que são cultivadas. A enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD) constitui a primeira linha de defesa contra as espécies reativas de oxigênio originadas pelos estresses ambientais. Os incrementos nos valores de SOD proporcionam um aumento na resistência das plantas quando são submetidas aos estresses ambientais (ZHANG, et al., 2005).

Pelos valores obtidos nas determinações de superóxido dismutase, o produto Brotax Solo® mostrou diferença estatística significativa entre doses nas amostras de plantas de milho coletadas aos 61 dias, onde o maior valor ocorreu para as plantas submetidas à dose 100% maior do que a dose recomendada (Tabela 7 do apêndice). Para os demais produtos, os resultados não mostraram respostas significativas a 5% de probabilidade entre os tratamentos aplicados para as plantas de milho e de soja (Tabelas 8, 17, 18, 27, 28, 37 e 38 do apêndice).

Zhang et al (2003) encontraram resultados de aumento da atividade de superóxido dismutase ocasionado pela aplicação de ácidos húmicos em creeping bentgrass (*Agrostis palustris*). Também foi verificado aumento na eficiência fotoquímica e diminuição de incidência de doenças, além da melhoria do aspecto visual desta cultura.

Em experimento com Kentucky bluegrass (*Poa pratensis*) submetida a estresse hídrico e aplicações de ácidos húmicos, Zhang e Schmidt (1999) observaram aumento nas atividades de superóxido dismutase relacionados às doses aplicadas de ácidos húmicos. Entretanto, foi constatada diminuição da atividade de superóxido dismutase relacionada ao teor de umidade do solo. Os autores justificam tal diminuição pelo aumento verificado nos antioxidantes não enzimáticos favorecido pela ação dos ácidos húmicos, que causaram decréscimo das espécies reativas de oxigênio presente nas células.

A atividade do superóxido dismutase responde diferentemente ao déficit hídrico em diferentes experimentos e espécies: ela pode ser aumentada (LUNA et al., 1985), diminuída (QUARTACCI e NAVARI-IZZO, 1992) ou pode não ser alterada (LUNA et al., 1985). Devido à presença de múltiplas formas enzimáticas da enzima superóxido dismutase (SCANDALIOS, 1993), somente a investigação das respostas de cada uma de suas formas enzimáticas pode prover maiores informações sobre o comportamento desta enzima nas plantas submetidas ao estresse hídrico.

A enzima catalase (CAT) não apresentou resposta significativa ao nível de 5% de probabilidade para as doses dos produtos nem para o teor de umidade que foram usados neste estudo (Tabelas 7, 8, 17, 18, 27, 28, 37 e 38 do apêndice). Sharma e Dubey (2005) examinaram a atividade da catalase em mudas de arroz (*Oryza sativa*) sob estresse hídrico e verificaram que o aumento desta enzima nas plantas não foi significativo. Da mesma forma, Zgallai et al. (2006) não verificaram aumento significativo para catalase em plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Nikita) submetidas a três diferentes níveis de estresse hídrico. Vários autores afirmam que a catalase apresenta pouca afinidade pelo peróxido de hidrogênio e, por esta razão, é comum não ocorrer incremento significativo em sua atividade quando avaliada em plantas sob estresse (HERTWIG et al., 1992; RADOTIC et al., 2000).

A enzima ascorbato peroxidase (APX) mostrou diferença estatística significativa entre doses do produto Brotax Solo® nas amostras de plantas de milho coletadas aos 61 dias, onde os maiores valores ocorreram para as plantas que receberam as doses recomendadas e o dobro desta (Tabela 7 do apêndice). O produto Naturvital® apresentou diferença significativa entre as médias obtidas para os teores de umidade do solo na determinação de APX das plantas de soja amostradas aos 42 dias após a semeadura. O maior valor de APX foi obtido para as amostras cultivadas no solo com teor de umidade referente a 90% da capacidade de retenção de água

(Tabela 18 do apêndice). Para os demais produtos, os resultados não mostraram respostas significativas a 5% de probabilidade entre os tratamentos aplicados para as plantas de milho e de soja (Tabelas 8, 17, 18, 27, 28, 37 e 38 do apêndice). Em estudo conduzido por Zhang e Kirkham (1996) foi observado que a atividade da enzima ascorbato peroxidase apresentou aumento para a cultura do sorgo (*Sorghum bicolor*) submetida a estresse hídrico, mas esse comportamento não aconteceu para a cultura do girassol (*Helianthus annuus*). Esses autores especulam que a presença do ascorbato nas células pode ser o fator responsável pela desintoxicação das espécies reativas de oxigênio, sem que seja necessária a atividade do ascorbato peroxidase para esta finalidade.

3.4.3 Eficiência Fotoquímica

A proporção do espectro de emissão da fluorescência da clorofila é determinada principalmente por dois parâmetros: o teor de clorofila e a capacidade fotossintética da folha. A taxa da fluorescência variável para a máxima fluorescência a 690 nm (F_v690nm/F_m690nm ou F_v/F_m) fornece meios de avaliar a capacidade fotossintética das plantas. Um maior valor da proporção F_v690nm/F_m690nm indica menor fotoinibição da fotossíntese e maior capacidade fotossintética (BOLHAR-NORDENKAMPF e LECHNER, 1988; ROMANO, 2001).

Pelos resultados obtidos, os valores da eficiência fotoquímica (F_v/F_m) das plantas não apresentaram diferença estatística significativa a 5% de probabilidade para os tratamentos aplicados neste estudo, apesar dos valores de F_v/F_m terem sido menores em todas as plantas submetidas ao estresse hídrico do que nas plantas cultivadas em condições adequadas de umidade do solo (Tabelas 1, 2, 11, 12, 21, 22, 31 e 32 do apêndice). Apenas para o produto PT4-O® houve efeito significativo, observando-se que ambas as doses aplicadas aumentaram a eficiência fotoquímica das plantas de milho aos 37 dias após a semeadura e entre as médias dos teores de umidade do solo para a leitura feita nas plantas aos 61 dias após a semeadura (Tabela 21 do apêndice).

Alguns estudos mostram valores de eficiência fotoquímica (F_v/F_m) acima de 0,7 para as plantas cultivadas sem estresse ambiental, enquanto que para as plantas submetidas a algum tipo de estresse, como o hídrico, por exemplo, estes valores podem ser menores que 0,3 (ZHANG e ERVIN, 2004; ZHANG e SCHMIDT, 1999). A eficiência fotoquímica reflete a máxima

capacidade fotoquímica e se relaciona com o número de complexos PSII ativos. O fotodano do centro de reação resulta em uma diminuição do valor de F_v/F_m (ROMANO, 2001).

Apesar de as plantas submetidas ao estresse hídrico terem apresentado sinais visuais de déficit hídrico, como o enrolamento das folhas das plantas de milho e mudança na orientação dos folíolos terminais das plantas de soja, que se apresentaram voltados para baixo (TAIZ e ZEIGER, 2002), os resultados das leituras de eficiência fotoquímica não mostraram sinais de danos severos no aparato fotossintético das plantas.

3.4.4 Produção de Matéria Seca e Altura de Plantas

Os bioestimulantes utilizados neste estudo mostraram resposta estatisticamente significativa ao nível de 5% de probabilidade para médias de altura e de massa de matéria seca de plantas cultivadas com e sem estresse hídrico. Os menores valores destes parâmetros foram obtidos para as plantas submetidas ao estresse hídrico (Tabelas 3, 4, 5, 6, 13, 14, 15, 16, 23, 24, 25, 26, 33, 34, 35 e 36 do apêndice).

Os valores de altura de plantas de milho e de soja apresentaram diferença significativa a partir da terceira medição feita aos 37 e 32 dias após a semeadura, respectivamente para cada cultura (Tabelas 3, 4, 13, 14, 23, 24, 33 e 34 do apêndice).

Entre as doses aplicadas, as plantas de milho apresentaram diferença estatística aos 21 e 30 dias após a semeadura para o produto Brotax Solo®. As maiores médias foram obtidas para a dose recomendada. Entretanto, nas medições seguintes (feitas aos 37, 45, 58 e 61 dias após a semeadura) este efeito significativo não foi observado (Tabela 3 do apêndice).

As plantas de soja mostraram resposta a alguns dos tratamentos: a aplicação das doses do produto Brotax Solo® proporcionou aumento nos valores de altura de plantas para a dose 100% superior à recomendada a partir da medição feita aos 32 dias após a semeadura até a realizada aos 46 dias após a semeadura; na última medição esta diferença não foi mantida (Tabela 4 do apêndice). Para o produto Brotax-5®, as medições de altura de plantas de soja mostraram diferença significativa para a primeira e última medições, 25 e 60 dias após a semeadura, respectivamente, não tendo sido significativa para as demais realizadas durante o período experimental (Tabela 34 do apêndice).

Os valores de massa de matéria seca de parte aérea das plantas de milho apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade entre as médias das doses aplicadas dos produtos Brotax Solo® e Naturvital®, onde a dose recomendada foi a que apresentou maior média nos dois casos (Tabelas 5 e 15 do apêndice). Houve efeito significativo dos níveis de umidade no solo, observando-se que, tanto para as plantas de milho quanto para as de soja, as maiores produções de matéria seca foram obtidas para as plantas cultivadas com o teor de umidade referente a 90% da capacidade de retenção de água.

Nas plantas de soja não houve diferença estatística entre as doses aplicadas dos produtos para peso de matéria seca de parte aérea e de raízes (Tabelas 6, 16, 26 e 36 do apêndice).

Zhang e Schmidt (1999) não acharam diferença significativa para massa de matéria seca de parte aérea e de raízes de Kentucky bluegrass (*Poa pratensis*) para doses aplicadas de ácidos húmicos em solos com diferentes teores de umidade (40% e 90% da capacidade de retenção de água). Em estudo conduzido com tall fescue (*Festuca arundinacea*) e creeping bentgrass (*Agrostis palustris*) visando avaliar a interação entre teor de umidade e doses de ácidos húmicos, Zhang e Schmidt (2000) observaram que o déficit hídrico reduziu significativamente a massa de matéria seca de parte aérea, mas não alterou a massa de matéria seca de raízes das duas espécies. Entretanto, as doses de ácidos húmicos aplicados nestas plantas proporcionaram maior produção de matéria seca de parte aérea e de raízes.

3.4.5 Teor de proteínas

O teor de proteínas das plantas geralmente diminui como resposta ao estresse hídrico ao qual são submetidas. Esta diminuição é devida ao aumento de atividades hidrolíticas nas células, bem como ao fechamento dos estômatos, que é uma resposta típica ao estresse hídrico. O fechamento dos estômatos provoca o enrolamento das folhas, reduz a temperatura e a fotossíntese, além de acarretar diminuição nos teores de proteínas (CASTRILLO et al., 2001).

Nas condições da realização do presente estudo não foi verificado efeito significativo a 5% de probabilidade dos tratamentos entre as médias referentes ao teor de umidade do solo para as plantas de milho e de soja (Tabelas 9, 10, 19, 20, 29, 30 do apêndice). As médias entre doses também não apresentou diferença estatística significativa. A exceção foi o produto Brotax 5®, que aumentou o teor de proteínas das plantas de milho, aos 42 dias depois do plantio, quando

aplicado na dose recomendada, e das plantas de soja aos 68 dias após o plantio para a dose 100% superior à recomendada (Tabelas 39 e 40 do apêndice).

As médias entre as plantas submetidas ao estresse hídrico mostraram aumento do teor de proteínas ao longo do período experimental, apesar de ter sido constatado sinais visuais de déficit hídrico durante a condução do experimento, como comentado anteriormente. Vários autores relatam aumento no teor de proteínas da planta durante déficit hídrico (TEZARA e LAWLOR, 1995, SHARMA e DUBEY, 2005). Estes autores justificam tal aumento como sendo uma defesa desenvolvida pelas plantas como resposta ao estresse hídrico ao qual estão sendo sujeitas. De acordo com as espécies das plantas, esta resposta pode ser em maior ou menor grau. Em trabalho realizado por Castrillo et al. (2001), os autores verificaram que o teor de proteínas das plantas de milho, feijão e tomate variou diferentemente quando essas plantas foram submetidas ao mesmo nível de déficit hídrico: as plantas de milho apresentaram maior teor de proteína, as plantas de feijão, menor e as plantas de tomate apresentaram flutuações nos resultados.

3.5 Conclusões

A concentração de auxina nos bioestimulantes foi baixa; conseqüentemente, esses produtos não alteraram ou tiveram pequena influência na atividade das enzimas superóxido dismutase, ascorbato peroxidase e catalase das plantas de milho e de soja.

O efeito dos bioestimulantes sobre a produção de matéria seca, altura, eficiência fotoquímica e teor de proteínas de plantas de milho e de soja foi pouco expressivo, exceto para Brotax Solo® e Naturvital®, que aumentaram a produção de matéria seca da parte aérea das plantas de milho.

Referências

ARTLIP, T.S.; WISNIEWSKI, M.E. Induction of proteins in response to biotic and abiotic stresses. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). **Handbook of Plant and Crop Physiology**. New York: M. Dekker, 2002. p. 657-679.

ASADA, K.; TAKAHASHI, M. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. In: KYLE, D.J.; OSMOND, C.B.; ARNTZEN, C.J. (Ed.). **Photoinhibition**. New York: Elsevier, 1987. p. 228-287.

BOLHAR-NORDENKAMPF, H.R. Winter stress and chlorophyll fluorescence in Norway spruce. In: LINCHTENTHALER, H.K (Ed.). **Applications of chlorophyll fluorescence in photosynthesis research, stress physiology, hydrobiology and remote sensing**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1988. p. 173-180.

CASTRILLO, M.; FERNANDEZ, D.; CACAGNO, A.M.; TRUJILLO, I.; GUENNI, L. Responses of ribulose-1,5biphosphate carboxylase, protein content, and stomatal conductance to water deficit in maize, tomato and bean. **Photosynthetica**, Prague, v. 39, p. 221-226, 2001.

CHANCE, B.; MAEHLI, A C. Assay of catalase and peroxidases. **Methods in Enzymology**, St. Louis, v.2, p.764-775, 1955.

CSINZINSZKY, A.A. Response of two bell peppers (*Capsicum annum* L.) cultivars to foliar and soil-applied biostimulants. **Soil Science Society of America Proceedings**, n. 49, p.199-203, 1990.

DUBEY, R.S.; PESSARAKLI, M. Physiological mechanisms of nitrogen absorption and assimilation in plants under stressful conditions. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). **Handbook of plant and crop physiology**. New York: M. Dekker, 2002. p. 637-655.

FOYER, C.H. The contribution of photosynthetic oxygen metabolism to oxidative stress in plants. In: INZE, D.; VAN MONTAGU, M. (Ed.). **Oxidative stress in plants**. New York: Taylor & Francis, 2002. p. 33-68.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 59, p. 309-314, 1977.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford: Clarendon Press, 1989. 543p.

HAMZA, B.; SUGGARS, A. Biostimulants: myths and realities. **Turfgrass Trends**, Newton, v. 10, p. 6-10, 2001. Disponível em: <http://www.turfgrasstrends.com/turfgrasstrends/article/articleDetail.jsp?id=13205>. Acesso em: 05 set. 2006.

HARTWIGSEN, J. EVANS, M.R. Humic acid seed and substrate treatments promote seedling root development. **Hort Science**, St. Joseph, v. 35, p. 1231-1233, 2000.

HERTWIG, B.; STREB, P.; FEIERABEND, J. Light dependency of catalase synthesis and degradation in leaves and the influence of interfering stress conditions. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 100, p.1547-1553, 1992.

JONES, M M.; TURNER, N.C.; OSMOND, C.B. Mechanisms of drought resistance. In: PALEG, L. G.; ASPINALL, D. (Ed.). **The physiology and biochemistry of drought resistance in plants**. Sydney; New York: Academic Press, 1981. p. 15-38.

KARNOK, K J. Promises, promises: can biostimulants deliver? **Golf Course Management**, Newton, v. 68, p. 67-71, 2000.

KELTING, M.; HARRIS, J.R.; FANELLI, J; APPLETON, B. Humate-based biostimulants affect early post-transplant root growth and sapflow of balled and burlapped red maple. **Hort Science**, St. Joseph, v. 33, p. 342-344, 1998.

KELTING, M.P. **Effects of soil amendments and biostimulants on the post-transplant growth of landscape trees**. 1997. 58 p. Thesis (Magister Science) - Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, 1997.

LAWLOR, D.W. The effects of water deficit on photosynthesis. In: SMIRNOFF, N. (Ed.). **Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation**. Oxford: BIOS Scientific Publishers; Herndon: Books International, 1995. p. 129-160.

LEVIT, J. **Plant responses to environmental stress**. New York: Academic Press, 1980. 486 p.

LINCHTENTHALER, K.H. In vivo chlorophyll fluorescence as a tool for stress detection in plants. In: LINCHTENTHALER, K.H (Ed.). **Applications of chlorophyll fluorescence in photosynthesis research, stress physiology, hydrobiology and remote sensing**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1988. p. 129-142.

LOGAN, B.A. Reactive oxygen species and photosynthesis. In: SMIRNOFF, N. (Ed.). **Antioxidants and reactive oxygen species in plants**. Oxford, UK; Ames, Iowa: Blackwell Pub., 2005. p. 250-267.

LONG, E. **The importance of biostimulants in turfgrass management**. Disponível em: <http://www.golfenviro.com/Article%20Archive/Biostimulants-Roots.htm>. Acesso em 10 Set. 2006.

LUNA, M.; BADIANI, M.; FELICI, M.; ARTEMI, F.; SERMANNI, G.G. Selective enzyme inactivation over water stress in maize (*Zea mays* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 25, p. 153-156, 1985.

MALAN, C.; GREYLING, M.M; GRESSEL, J. Correlation between Cu/Zn superoxide dismutase and glutathione reductase, and environmental and xenobiotic stress tolerance in maize inbreds. **Plant Science**, Amsterdam, v. 69, p. 157-166, 1990.

MANO, J. Early events in environmental stresses in plants – induction mechanisms of oxidative stress. In: INZE, D.; VAN MONTAGU, M. (Ed.). **Oxidative stress in plants**. New York: Taylor & Francis, 2002. p. 216-245

MCKERSIE, B.D.; LESHEM, Y.Y. **Stress and stress coping in cultivated plants**. Dordrecht; Boston: Kluwer Academic Publishers, 1994. 256 p.

MOHAMMED, G.H.; ZARCO-TEJADA, P.; MILLER, J. R. Applications of chlorophyll fluorescence in forestry and ecophysiology. In: DEELL, J.R.; TOIVONEN, P.M.A. (Ed.). **Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology**. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2003. p. 79-124.

MULLINS, G.; HECKENDORN, S. **Soil test notes 1-4**. Virginia Cooperative Extension. Blacksburg: Virginia Tech, 2005. 155p. (Agriculture and Extension Communications, 834)

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 22, p. 867-880, 1981.

NAVARI-IZZO, F.; RASCIO, N. Plant response to water-deficit conditions. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). **Handbook of plant and crop stress**. New York: M. Dekker, 1999. p. 231-270.

NOCTOR, G.; FOYER, C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, p. 249-279, 1998.

O'DONNELL, R.W. The auxin-like effects of humic preparations from leonardite. **Soil Science**, New Brunswick, v.116, n.2, p.106-112, 1973.

PERL, A.; PERL-TREVES, R.; GALILI, G.; AVIV, D.; SHALGI, E.; MALKIN, S.; GALUN, E. Enhanced oxidative stress defense in transgenic tobacco expressing tomato Cu, Zn superoxide dismutase. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.85, p. 568-576, 1993.

PERL-TREVES, R.; PERL, A. Oxidative stress. In: INZE, D.; VAN MONTAGU, M. (Ed.). **Oxidative stress in plants**. New York: Taylor & Francis, 2002. p. 1-32.

PRICE, A. H.; HENDRY, G.A.F. Stress and the role of activated oxygen scavengers and protective enzymes on plants subjected to drought. **Biochemical Society Transactions**, Essex, v.17, p. 493-494, 1989.

QUARTACCI, M.F.; NAVARI-IZZO, F. Water stress and free radical mediated changes in sunflower seedlings. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 139, p. 621-625, 1992.

RADOTIC, K.; DUCIC, T.; MUTAVDZIC, D. Changes in peroxidase activity and isoenzymes in spruce needles after exposure to different concentrations of cadmium. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 44, p. 105-113, 2000.

REDDY, A.R.; CHAITANYA, K V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.161, p. 1189-1202, 2004.

RICHARDSON, A.D.; AIKENS, M.; BERLYN, G.P.; MARSHALL, P. Drought stress and paper birch (*Betula papyrifera*) seedlings: effects of an organic biostimulant on plant health and stress tolerance, and detection of stress effects with instrument-based, noninvasive methods. **Journal of Arboriculture**, Illinois, v.30, p. 52-61, 2004.

RINDELE, U.; LICHTENTHALER, H.K. The chlorophyll fluorescence ratio F690/F735 as a possible stress indicator. In: LINCHTENTHALER, K.H (Ed). **Applications of chlorophyll fluorescence**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1988. p. 189-196.

ROMANO, M.R. **Análise de crescimento, produção de biomassa, fotossíntese e biossíntese de aminoácidos em plantas transgênicas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) que expressam o gene *Lhcb1*2* de ervilha**. 2001. 66 p. Dissertação (Mestrado, Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2001.

RUSSO, R.O.; BERLYN, G.P. The use of organic biostimulants to help low input sustainable agriculture. **Journal of Sustainable Agriculture**, New York, v.1, n.2, p. 19-42, 1990.

SAS Institute. **SAS/STAT user's guide. Version 8.2 for windows**. SAS Inst., Cary, 2002.

SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutase. **Plant Physiology**, Rockville, v.101, p. 7-12, 1993.

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 46, p. 209-211, 2005.

SMIRNOFF, N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. **New Phytologist**, London, v. 125, p. 27-58, 1993.

SMITH, P.K. Measurement of protein using bicinchoninic acid. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 150, p. 76-85, 1985.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates, 2002. 792 p.

TEZARA, W.; LAWLOR, D.W. Effects of water stress effects on carbon-reduction-cycle intermediates, ribulose biphosphate carboxylase activity, and spatial homogeneity of photosynthesis in intact leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 98, p. 1060-1065, 1989.

TURNER, N.C. Drought resistance and adaptation to water deficits in crop plants. In: MUSSEL, H.; STAPLES, R.C. (Ed.). **Stress physiology in crop plants**. New York: Wiley-Interscience, 1979. p. 343-372.

ZGALLAI, H.; STEPPE, K.; LEMEURE, R. Effects of different levels of water stress on leaf water potential, stomatal resistance, protein and chlorophyll content and certain antioxidative enzymes in tomato plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, Beijing, v. 48, p. 679-685, 2006.

ZHANG, X.; ERVIN, E.; EVANYLO, G.; SHERONY, C.; PEOT, C. Biosolids impact on tall fescue drought resistance. **Journal of Residuals Science & Technology**, Lancaster, v. 2, p. 173-180, 2005.

ZHANG, X.; ERVIN, E. Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 1737-1745, 2004.

ZHANG, X.; ERVIN, E.; SCHMIDT, R.E. Plant growth can enhance the recovery of Kentucky bluegrass sod from heat injury. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 952-956, 2003.

ZHANG, X.; SCHMIDT, R. E. Hormone-containing products' impact on antioxidant status of tall fescue and creeping bentgrass subjected to drought. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 1344-1349, 2000.

ZHANG, X.; SCHMIDT, R. E. Antioxidant response to hormone-containing product in Kentucky bluegrass subjected to drought. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 545-551, 1999.

ZHANG, X. **Influence of plant growth regulators on turfgrass growth, antioxidant status, and drought tolerance**. 1997. 131 p. Tese (PhD) – Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, 1997.

ZHANG, J.; KIRKHAM, M.B. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. **New Phytologist**, London, v. 132, p. 361-373, 1996.

YOPP, J.H.; AUNG, L.H.; STEFFENS, G.L. **Bioassays and other special techniques for plants hormones and plant growth regulators**. Lake Alfred, FL: Plant Growth Regulator Society of America, 1986. 208p.

APÊNDICE

Tabela 1 – Eficiência fotoquímica (Fv690/Fm690) de plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax Solo®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 21 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,617	0,609	0,613 a [†]
1	150	0,589	0,621	0,605 a
2	300	0,587	0,588	0,587 a
Média		0,598 x [†]	0,606 x	
		----- 30 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,526	0,610	0,568 a
1	150	0,526	0,582	0,554 a
2	300	0,582	0,525	0,553 a
Média		0,545 x	0,572 x	
		----- 37 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,570	0,560	0,565 a
1	150	0,530	0,581	0,556 a
2	300	0,580	0,577	0,579 a
Média		0,560 x	0,572 x	
		----- 45 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,544	0,654	0,599 a
1	150	0,652	0,703	0,677 a
2	300	0,662	0,573	0,618 a
Média		0,619 x	0,643 x	
		----- 58 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,721	0,649	0,708 a
1	150	0,711	0,700	0,705 a
2	300	0,699	0,728	0,713 a
Média		0,710 x	0,707 x	
		----- 61 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,612	0,555	0,584 a
1	150	0,572	0,555	0,563 a
2	300	0,717	0,611	0,664 a
Média		0,634 x	0,574 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 2 – Eficiência fotoquímica (Fv690/Fm690) das plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax Solo®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 26 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,750	0,737	0,744 a [†]
1	150	0,762	0,749	0,755 a
2	300	0,768	0,738	0,753 a
Média		0,760 x [†]	0,741 x	
		----- 34 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,560	0,627	0,593 a
1	150	0,659	0,626	0,643 a
2	300	0,605	0,591	0,598 a
Média		0,608 x	0,615 x	
		----- 42 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,684	0,665	0,674 a
1	150	0,697	0,637	0,667 a
2	300	0,686	0,665	0,675 a
Média		0,689 x	0,656 x	
		----- 53 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,693	0,660	0,676 a
1	150	0,655	0,674	0,665 a
2	300	0,620	0,654	0,637 a
Média		0,656 x	0,663 x	
		----- 61 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,669	0,651	0,660 a
1	150	0,702	0,655	0,678 a
2	300	0,671	0,692	0,681 a
Média		0,681 x	0,666 x	
		----- 67 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,742	0,763	0,752 a
1	150	0,710	0,759	0,734 a
2	300	0,754	0,669	0,711 a
Média		0,735 x	0,730 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 3 – Altura (cm) das plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax Solo®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 21 dias após a semeadura-----		
Controle	0	30,4	31,9	31,2 b [†]
1	150	44,2	44,2	44,2 a
2	300	30,4	35,5	36,8 ba
Média		37,6 x [†]	37,3 x	
		----- 30 dias após a semeadura-----		
Controle	0	51,8	62,6	57,2 b
1	150	66,6	76,8	71,7 a
2	300	53,5	59,2	56,4 b
Média		57,3 x	66,2 x	
		----- 37 dias após a semeadura-----		
Controle	0	74,3	92,9	83,6 a
1	150	89,3	102,2	95,7 a
2	300	67,7	98,2	82,9 a
Média		77,1 y	97,8 x	
		----- 45 dias após a semeadura-----		
Controle	0	85,9	113,0	99,5 a
1	150	101,6	116,0	108,8 a
2	300	80,4	112,4	96,4 a
Média		89,3 y	113,8 x	
		----- 58 dias após a semeadura-----		
Controle	0	93,5	122,3	107,9 a
1	150	108,7	129,1	118,9 a
2	300	89,7	122,7	106,2 a
Média		97,3 y	124,7 x	
		----- 61 dias após a semeadura-----		
Controle	0	96,1	124,9	110,5 a
1	150	111,3	131,6	121,5 a
2	300	92,3	125,3	108,8 a
Média		99,9 y	127,3 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 4 – Altura (cm) das plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax Solo®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 25 dias após a semeadura-----		
Controle	0	18,8	20,7	19,8 a [†]
1	150	20,7	21,0	20,8 a
2	300	20,9	22,6	21,8 a
Média		20,2 x [†]	21,4 x	
		----- 32 dias após a semeadura-----		
Controle	0	21,1	26,8	24,0 b
1	150	24,9	27,7	26,3 ba
2	300	26,4	30,5	28,4 a
Média		24,1 y	28,3 x	
		----- 39 dias após a semeadura-----		
Controle	0	24,1	30,9	27,5 b
1	150	27,7	34,1	30,9 ba
2	300	29,4	33,6	31,5 a
Média		27,1 y	32,8 x	
		----- 46 dias após a semeadura-----		
Controle	0	25,8	35,7	30,8 b
1	150	28,7	37,9	33,3 ba
2	300	30,9	37,7	34,3 a
Média		28,5 y	37,1 x	
		----- 60 dias após a semeadura-----		
Controle	0	22,8	39,3	31,1 a
1	150	30,0	40,4	35,2 a
2	300	33,2	40,2	36,7 a
Média		28,7 y	39,9 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 5 – Produção de matéria seca da parte aérea e de raízes de plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax Solo®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	-----peso parte aérea (g) -----		
Controle	0	32,8	46,8	39,8 b [†]
1	150	40,2	55,4	47,8 a
2	300	32,5	46,7	39,6 b
Média		35,1 y [†]	49,6 x	
		----- peso raízes (g) -----		
Controle	0	29,2	40,2	34,7 ba
1	150	36,4	53,5	45,0 a
2	300	25,6	33,1	29,3 b
Média		30,4 y	42,3 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 6 – Produção de matéria seca da parte aérea e de raízes de plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax Solo®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	-----peso parte aérea (g) -----		
Controle	0	22,4	28,5	25,5 a [†]
1	150	23,6	28,9	26,2 a
2	300	25,0	29,2	27,1 a
Média		23,7 y [†]	28,8 x	
		----- peso raízes (g) -----		
Controle	0	5,5	8,4	6,9 a
1	150	6,5	7,9	7,2 a
2	300	6,4	9,3	7,8 a
Média		6,1 y	8,5 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 7 – Atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) das plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax Solo®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- SOD 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	1,30	1,82	1,56 a [†]
1	150	1,44	0,97	1,21 a
2	300	1,49	1,82	1,66 a
Média		1,41 x [†]	1,54 x	
		----- SOD 61 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	0,86	0,82	0,84 b
1	150	1,01	0,73	0,87 b
2	300	2,29	1,24	1,77 a
Média		1,39 x	0,93 x	
		----- APX 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	25,3	16,2	20,8 a
1	150	39,8	23,0	31,6 a
2	300	85,4	24,9	55,2 a
Média		50,2 x	21,5 x	
		----- APX 61 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	10,2	18,1	14,2 b
1	150	42,6	26,6	34,6 a
2	300	39,4	31,6	35,5 a
Média		30,7 x	25,5 x	
		----- CAT 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	2095	774,2	1434 a
1	150	1695	1546,3	1621 a
2	300	1047	639,7	843 a
Média		1612,2 x	986,7 x	
		----- CAT 61 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	854,6	278,4	566,5 a
1	150	530,5	521,1	415,4 a
2	300	309,7	2906,5	1718,5 a
Média		564,9 x	1235,3 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 8 – Atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) das plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax Solo®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- SOD 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	1,08	1,02	1,05 a [†]
1	150	0,76	1,25	1,01 a
2	300	0,62	0,79	0,70 a
Média		0,82 x [†]	1,02 x	
		----- SOD 68 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	1,11	0,66	0,88 a
1	150	3,19	1,04	1,89 a
2	300	0,80	0,60	0,92 a
Média		1,70 x	0,76 x	
		----- APX 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	28,51	15,64	22,07 a
1	150	36,15	25,29	30,72 a
2	300	45,17	39,09	42,13 a
Média		36,61 x	26,67 x	
		----- APX 68 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	35,20	31,65	33,43 a
1	150	61,18	43,61	52,40 a
2	300	41,13	37,53	39,33 a
Média		45,84 x	37,60 x	
		----- CAT 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	842,7	224,3	533,5 a
1	150	551,1	364,9	458,0 a
2	300	252,0	336,8	294,4 a
Média		548,6 x	308,7 x	
		----- CAT 68 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	1262,3	407,5	834,9 a
1	150	926,2	392,2	659,2 a
2	300	347,6	537,5	442,6 a
Média		845,9 x	445,7 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 9 – Teor de proteína nas plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax Solo®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- proteína 42 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	188,10	182,77	185,41 a [†]
1	150	216,68	204,68	210,68 a
2	300	213,02	162,02	187,52 a
Média		205,93 x [†]	183,16 x	
		----- proteína 61 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	268,52	259,10	263,81 a
1	150	258,27	281,35	269,81 a
2	300	244,77	224,18	234,48 a
Média		257,18 x	254,88 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 10 - Teor de proteína nas plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax Solo®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- proteína 42 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	359,27	337,18	348,23 a [†]
1	150	373,93	300,77	337,35 a
2	300	392,10	435,68	413,89 a
Média		375,10 x [†]	357,88 x	
		----- proteína 68 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	341,4	382,18	361,77 a
1	150	285,3	421,77	353,52 a
2	300	456,9	397,68	427,31 a
Média		361,18 x	400,54 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 11 – Eficiência fotoquímica (Fv690/Fm690) das plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Naturvital®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 21 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,607	0,579	0,593 a [†]
1	25	0,592	0,633	0,612 a
2	50	0,575	0,580	0,578 a
Média		0,591 x [†]	0,597 x	
		----- 30 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,543	0,534	0,538 a
1	25	0,572	0,540	0,556 a
2	50	0,538	0,541	0,539 a
Média		0,551 x	0,538 x	
		----- 37 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,557	0,550	0,554 a
1	25	0,510	0,571	0,540 a
2	50	0,561	0,572	0,566 a
Média		0,543 x	0,564 x	
		----- 45 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,680	0,667	0,673 a
1	25	0,646	0,695	0,670 a
2	50	0,560	0,590	0,575 a
Média		0,629 x	0,650 x	
		----- 58 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,618	0,710	0,664 a
1	25	0,678	0,700	0,658 a
2	50	0,726	0,638	0,713 a
Média		0,674 x	0,682 x	
		----- 61 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,568	0,643	0,605 a
1	25	0,585	0,618	0,601 a
2	50	0,593	0,570	0,581 a
Média		0,582 x	0,610 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 12 – Eficiência fotoquímica (Fv690/Fm690) das plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Naturvital®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 26 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,742	0,751	0,747 a [†]
1	25	0,742	0,770	0,756 a
2	50	0,746	0,751	0,748 a
Média		0,743 x [†]	0,757 x	
		----- 34 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,679	0,569	0,624 a
1	25	0,631	0,617	0,624 a
2	50	0,590	0,609	0,599 a
Média		0,633 x	0,598 x	
		----- 42 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,685	0,662	0,673 a
1	25	0,697	0,643	0,670 a
2	50	0,646	0,660	0,653 a
Média		0,676 x	0,655 x	
		----- 53 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,626	0,623	0,624 a
1	25	0,655	0,700	0,677 a
2	50	0,618	0,619	0,619 a
Média		0,633 x	0,647 x	
		----- 61 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,660	0,671	0,666 a
1	25	0,655	0,666	0,660 a
2	50	0,622	0,686	0,654 a
Média		0,646 x	0,674 x	
		----- 67 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,738	0,670	0,704 a
1	25	0,686	0,754	0,720 a
2	50	0,729	0,752	0,741 a
Média		0,718 x	0,725 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 13 – Altura (cm) das plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Naturvital®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 21 dias após a semeadura-----		
Controle	0	33,8	32,6	33,2 b [†]
1	25	44,0	40,6	42,3 a
2	50	28,8	29,0	28,8 b
Média		35,5 x [†]	34,1 x	
		----- 30 dias após a semeadura-----		
Controle	0	62,4	60,9	61,7 a
1	25	56,3	66,7	61,5 a
2	50	48,6	55,4	52,0 b
Média		55,8 x	61,0 x	
		----- 37 dias após a semeadura-----		
Controle	0	83,2	99,7	91,4 a
1	25	84,2	102,9	93,5 a
2	50	74,7	91,2	82,9 a
Média		80,7 y	97,9 x	
		----- 45 dias após a semeadura-----		
Controle	0	96,1	115,9	106,0 a
1	25	100,9	116,8	108,9 a
2	50	88,0	112,6	100,3 a
Média		95,0 y	115,1 x	
		----- 58 dias após a semeadura-----		
Controle	0	108,3	127,8	118,1 a
1	25	108,3	124,4	116,4 a
2	50	99,4	121,9	110,7 a
Média		105,4 y	124,7 x	
		----- 61 dias após a semeadura-----		
Controle	0	110,9	130,4	120,6 a
1	25	110,9	127,0	118,9 a
2	50	102,0	124,4	113,2 a
Média		107,9 y	127,3 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 14 – Altura (cm) das plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Naturvital®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 25 dias após a semeadura-----		
Controle	0	19,2	20,1	19,6 a [†]
1	25	21,3	20,7	21,0 a
2	50	20,1	22,4	21,2 a
Média		20,2 x [†]	21,0 x	
		----- 32 dias após a semeadura-----		
Controle	0	24,1	26,8	25,5 a
1	25	26,0	28,3	27,2 a
2	50	23,9	29,2	26,5 a
Média		24,7 y	28,1 x	
		----- 39 dias após a semeadura-----		
Controle	0	27,0	31,5	29,3 a
1	25	29,2	33,0	31,1 a
2	50	26,2	32,5	29,4 a
Média		27,5 y	32,3 x	
		----- 46 dias após a semeadura-----		
Controle	0	29,0	35,5	32,2 a
1	25	31,5	37,8	34,7 a
2	50	28,1	35,5	31,8 a
Média		29,5 y	36,3 x	
		----- 60 dias após a semeadura-----		
Controle	0	30,2	38,5	34,4 a
1	25	33,8	38,7	36,3 a
2	50	30,2	37,4	33,8 a
Média		31,4 y	38,2 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 15 – Produção de matéria seca da parte aérea e de raízes de plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Naturvital®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	-----peso parte aérea (g) -----		
Controle	0	38,2	48,0	43,1 ba [†]
1	25	38,2	52,9	45,6 a
2	50	33,8	46,9	40,3 b
Média		36,7 y [†]	49,3 x	
		----- peso raízes (g) -----		
Controle	0	32,6	53,7	43,2 a
1	25	34,2	49,5	41,9 a
2	50	31,8	46,5	39,1 a
Média		32,9 y	49,9 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 16 – Produção de matéria seca da parte aérea e de raízes de plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Naturvital®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	-----peso parte aérea (g) -----		
Controle	0	23,8	28,5	26,2 a [†]
1	25	24,7	27,7	26,2 a
2	50	23,5	28,9	26,2 a
Média		24,0 y [†]	28,4 x	
		----- peso raízes (g) -----		
Controle	0	6,4	8,6	7,5 a
1	25	7,3	8,0	7,7 a
2	50	6,5	8,0	7,2 a
Média		6,7 y	8,2 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 17 – Atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) das plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Naturvital®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- SOD 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	1,09	1,31	1,20 a [†]
1	25	0,90	0,94	0,92 a
2	50	1,10	0,90	1,00 a
Média		1,03 x [†]	1,05 x	
		----- SOD 61 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	0,59	1,08	0,84 a
1	25	0,82	0,50	0,66 a
2	50	0,68	0,52	0,60 a
Média		0,70 x	0,70 x	
		----- APX 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	40,2	25,4	32,8 a
1	25	20,6	18,5	19,5 b
2	50	20,2	13,4	16,8 b
Média		27,0 x	19,1 x	
		----- APX 61 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	22,9	23,4	23,2 a
1	25	38,0	11,1	24,6 a
2	50	28,2	13,4	20,8 a
Média		29,7 x	16,0 x	
		----- CAT 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	615,1	1202,8	909,0 a
1	25	387,0	587,0	487,0 a
2	50	1383,1	305,7	844,4 a
Média		795,1 x	698,5 x	
		----- CAT 61 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	899,0	836,3	867,9 a
1	25	961,0	199,4	580,1 a
2	50	1288,0	968,5	1128,4 a
Média		1049,5 x	668,1 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 18 – Atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) das plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Naturvital®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- SOD 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	0,99	0,73	0,86 a [†]
1	25	0,63	0,59	0,61 a
2	50	0,74	0,55	0,64 a
Média		0,78 x [†]	0,62 x	
		----- SOD 68 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	0,67	0,57	0,62 a
1	25	0,42	1,10	0,77 a
2	50	0,64	1,07	0,86 a
Média		0,58 x	0,91 x	
		----- APX 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	63,4	77,7	70,6 a
1	25	68,9	82,8	75,9 a
2	50	61,5	77,7	69,6 a
Média		64,6 y	79,4 x	
		----- APX 68 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	30,9	35,8	33,3 a
1	25	21,7	76,4	49,1 a
2	50	23,3	24,8	24,1 a
Média		25,3 x	45,7 x	
		----- CAT 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	632,9	336,3	484,6 a
1	25	378,1	440,2	409,2 a
2	50	553,9	405,8	479,9 a
Média		521,6 x	394,1 x	
		----- CAT 68 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	269,1	500,8	384,9 a
1	25	436,9	1011,0	723,9 a
2	50	469,9	719,5	594,7 a
Média		392,0 x	743,8 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 19 – Teor de proteína nas plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Naturvital®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- proteína 42 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	232,8	263,4	248,14 a [†]
1	25	233,0	275,1	254,06 a
2	50	209,3	253,3	231,31 a
Média		225,0 x [†]	263,9 x	
		----- proteína 61 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	329,0	207,7	268,4 a
1	25	272,0	252,6	252,4 a
2	50	252,2	288,6	280,3 a
Média		284,4 x	249,6 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 20 – Teor de proteína nas plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Naturvital®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- proteína 42 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	301,6	391,6	346,6 a [†]
1	25	389,85	367,5	378,6 a
2	50	369,85	400,1	384,9 a
Média		353,7 x [†]	386,4 x	
		----- proteína 68 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	404,9	401,7	403,3 a
1	25	382,9	316,3	349,6 a
2	50	423,1	383,5	403,3 a
Média		403,6 x	367,1 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 21 – Eficiência fotoquímica (Fv690/Fm690) das plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante PT4-O®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 21 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,610	0,626	0,618 a [†]
1	0,5	0,592	0,644	0,618 a
2	1	0,637	0,592	0,614 a
Média		0,613 x [†]	0,620 x	
		----- 30 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,610	0,599	0,604 a
1	0,5	0,551	0,576	0,563 a
2	1	0,593	0,511	0,552 a
Média		0,584 x	0,562 x	
		----- 37 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,481	0,535	0,508 b
1	0,5	0,610	0,597	0,603 a
2	1	0,494	0,563	0,528 a
Média		0,528 x	0,565 x	
		----- 45 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,707	0,641	0,674 a
1	0,5	0,712	0,663	0,687 a
2	1	0,633	0,643	0,638 a
Média		0,684 x	0,649 x	
		----- 58 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,649	0,612	0,630 a
1	0,5	0,623	0,614	0,618 a
2	1	0,661	0,712	0,686 a
Média		0,644 x	0,646 x	
		----- 61 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,510	0,693	0,602 a
1	0,5	0,507	0,639	0,573 a
2	1	0,489	0,539	0,514 a
Média		0,502 y	0,642 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 22 – Eficiência fotoquímica (Fv690/Fm690) das plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante PT4-O®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 26 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,754	0,753	0,753 a [†]
1	0,5	0,740	0,754	0,747 a
2	1	0,761	0,748	0,754 a
Média		0,751 x [†]	0,751 x	
		----- 34 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,617	0,589	0,603 a
1	0,5	0,630	0,591	0,610 a
2	1	0,605	0,633	0,619 a
Média		0,617 x	0,604 x	
		----- 42 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,726	0,659	0,693 a
1	0,5	0,677	0,639	0,658 a
2	1	0,676	0,651	0,663 a
Média		0,693 x	0,650 x	
		----- 53 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,675	0,646	0,660 a
1	0,5	0,602	0,635	0,618 a
2	1	0,583	0,679	0,631 a
Média		0,620 x	0,653 x	
		----- 61 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,684	0,643	0,664 a
1	0,5	0,714	0,635	0,675 a
2	1	0,711	0,685	0,698 a
Média		0,703 x	0,654 x	
		----- 67 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,720	0,746	0,733 a
1	0,5	0,662	0,712	0,687 a
2	1	0,679	0,718	0,698 a
Média		0,687 x	0,725 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 23 – Altura (cm) das plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante PT4-O®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 21 dias após a semeadura-----		
Controle	0	38,7	29,4	34,0 a [†]
1	0,5	35,5	30,2	32,9 a
2	1	31,1	40,8	35,9 a
Média		35,1 x [†]	33,5 x	
		----- 30 dias após a semeadura-----		
Controle	0	61,5	54,6	58,1 a
1	0,5	60,5	56,5	58,5 a
2	1	56,7	63,0	59,9 a
Média		59,6 x	58,0 x	
		----- 37 dias após a semeadura-----		
Controle	0	93,3	87,6	90,4 a
1	0,5	78,5	87,4	82,9 b
2	1	85,9	87,6	90,5 a
Média		85,9 x	90,1 x	
		----- 45 dias após a semeadura-----		
Controle	0	105,8	104,9	104,9 a
1	0,5	92,2	100,3	100,3 a
2	1	98,8	105,9	105,9 a
Média		98,9 y	108,5 x	
		----- 58 dias após a semeadura-----		
Controle	0	113,4	112,8	112,8 a
1	0,5	101,1	109,8	109,8 a
2	1	108,7	117,4	117,4 a
Média		107,8 y	118,9 x	
		----- 61 dias após a semeadura-----		
Controle	0	115,9	115,3	115,3 a
1	0,5	103,7	112,3	112,3 a
2	1	111,3	120,0	120,0 a
Média		110,3 y	121,4 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 24 – Altura (cm) das plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante PT4-O®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 25 dias após a semeadura-----		
Controle	0	21,3	22,8	22,1 a [†]
1	0,5	19,4	20,3	19,9 b
2	1	20,9	19,6	20,3 b
Média		20,6 x [†]	20,9 x	
		----- 32 dias após a semeadura-----		
Controle	0	26,0	27,9	26,9 a
1	0,5	23,7	25,8	24,7 a
2	1	25,6	26,4	26,0 a
Média		25,1 x	26,7 x	
		----- 39 dias após a semeadura-----		
Controle	0	28,7	32,8	30,8 a
1	0,5	25,8	30,4	28,1 b
2	1	29,8	31,7	30,8 a
Média		28,1 y	31,6 x	
		----- 46 dias após a semeadura-----		
Controle	0	30,4	37,0	33,7 a
1	0,5	28,3	35,1	31,7 a
2	1	31,1	34,9	33,0 a
Média		29,9 y	35,7 x	
		----- 60 dias após a semeadura-----		
Controle	0	32,1	39,1	35,6 a
1	0,5	30,2	38,7	34,5 a
2	1	32,3	37,6	35,0 a
Média		31,6 y	38,5 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 25 – Produção de matéria seca da parte aérea e de raízes de plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante PT4-O®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	-----peso parte aérea (g) -----		
Controle	0	38,7	46,9	42,8 a [†]
1	0,5	37,8	43,5	40,6 a
2	1	37,6	48,2	42,9 a
Média		38,0 y [†]	46,2 x	
		----- peso raízes (g) -----		
Controle	0	33,0	54,5	43,7 a
1	0,5	34,2	37,4	35,8 a
2	1	32,6	50,2	41,4 a
Média		33,2 y	47,3 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 26 – Produção de matéria seca da parte aérea e de raízes de plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante PT4-O®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	-----peso parte aérea (g) -----		
Controle	0	23,7	29,9	26,8 a [†]
1	0,5	23,5	27,7	25,6 a
2	1	24,5	27,0	25,8 a
Média		23,9 y [†]	28,2 x	
		----- peso raízes (g) -----		
Controle	0	5,9	8,9	7,4 a
1	0,5	5,9	7,8	6,9 a
2	1	6,9	6,9	6,9 a
Média		6,2 y	7,9 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 27 – Atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) das plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante PT4-O®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- SOD 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	0,95	0,86	0,90 a [†]
1	0,5	1,02	0,89	0,95 a
2	1	0,98	1,32	1,15 a
Média		0,98 x [†]	1,02 x	
		----- SOD 61 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	0,82	0,61	0,71 a
1	0,5	0,54	1,03	0,79 a
2	1	0,78	0,63	0,70 a
Média		0,71 x	0,76 x	
		----- APX 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	23,1	32,1	27,6 a
1	0,5	40,7	26,6	33,7 a
2	1	37,5	11,8	24,6 a
Média		33,8 x	23,5 x	
		----- APX 61 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	24,9	17,1	21,0 a
1	0,5	24,4	15,3	19,8 a
2	1	29,2	17,2	23,2 a
Média		26,2 x	16,5 x	
		----- CAT 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	309,1	872,0	590,4 a
1	0,5	480,2	258,0	369,3 a
2	1	229,9	1026,0	627,9 a
Média		339,7 x	718,6 x	
		----- CAT 61 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	1256,4	870,8	1063,6 a
1	0,5	113,0	272,9	201,5 a
2	1	853,4	493,6	673,5 a
Média		746,6 x	545,7 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 28 – Atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) das plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante PT4-O®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- SOD 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	4,20	3,19	3,69 a [†]
1	0,5	3,41	2,92	3,16 a
2	1	5,45	3,70	4,57 a
Média		4,35 x [†]	3,27 x	
		----- SOD 68 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	3,46	1,28	2,37 a
1	0,5	2,20	2,89	2,55 a
2	1	1,95	1,14	1,54 a
Média		2,53 x	1,77 x	
		----- APX 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	21,6	23,2	22,4 a
1	0,5	38,9	42,7	40,8 a
2	1	39,1	24,9	32,0 a
Média		34,9 x	27,2 x	
		----- APX 68 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	33,5	28,3	30,9 a
1	0,5	26,5	32,4	29,5 a
2	1	44,8	20,8	32,8 a
Média		33,2 x	30,2 x	
		----- CAT 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	117,6	339,6	228,6 a
1	0,5	318,8	1326,9	822,8 a
2	1	474,2	344,1	409,2 a
Média		303,5 x	670,2 x	
		----- CAT 68 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	307,3	526,3	416,8 a
1	0,5	345,7	440,7	393,2 a
2	1	472,9	493,9	483,4 a
Média		375,3 x	487,0 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 29 – Teor de proteína nas plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante PT4-O®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- proteína 42 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	260,6	340,4	300,4 a [†]
1	0,5	244,7	236,6	240,6 a
2	1	244,0	244,1	244,0 a
Média		249,7 x [†]	273,6 x	
		----- proteína 61 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	275,9	249,2	262,6 a
1	0,5	224,7	213,6	219,2 a
2	1	264,7	318,3	291,5 a
Média		255,1 x	260,4 x	

† = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 30 – Teor de proteína nas plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante PT4-O®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- proteína 42 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	336,5	396,2	366,3 a [†]
1	0,5	356,1	367,7	361,9 a
2	1	340,6	375,8	358,2 a
Média		344,4 x [†]	379,9 x	
		----- proteína 68 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	453,6	431,5	442,5 a
1	0,5	448,6	413,1	430,9 a
2	1	377,5	423,7	400,6 a
Média		426,6 x	422,8 x	

† = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 31 – Eficiência fotoquímica (Fv690/Fm690) das plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax 5®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 21 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,512	0,571	0,542 a [†]
1	8	0,575	0,562	0,568 a
2	16	0,570	0,615	0,592 a
Média		0,552 x [†]	0,582 x	
		----- 30 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,584	0,549	0,567 a
1	8	0,540	0,518	0,529 a
2	16	0,584	0,573	0,578 a
Média		0,569 x	0,546 x	
		----- 37 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,539	0,548	0,543 a
1	8	0,600	0,483	0,542 a
2	16	0,513	0,544	0,528 a
Média		0,550 x	0,525 x	
		----- 45 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,647	0,598	0,622 a
1	8	0,532	0,607	0,570 a
2	16	0,588	0,586	0,587 a
Média		0,589 x	0,597 x	
		----- 58 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,718	0,712	0,715 a
1	8	0,742	0,681	0,711 a
2	16	0,684	0,740	0,712 a
Média		0,714 x	0,711 x	
		----- 61 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,514	0,621	0,557 a
1	8	0,491	0,600	0,556 a
2	16	0,463	0,553	0,508 a
Média		0,489 x	0,591 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 32 – Eficiência fotoquímica (Fv690/Fm690) das plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax 5®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 26 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,743	0,771	0,757 a [†]
1	8	0,755	0,737	0,746 a
2	16	0,751	0,770	0,761 a
Média		0,749 x [†]	0,759 x	
		----- 34 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,589	0,624	0,606 a
1	8	0,640	0,558	0,599 a
2	16	0,639	0,643	0,641 a
Média		0,623 x	0,608 x	
		----- 42 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,698	0,673	0,686 a
1	8	0,701	0,588	0,644 a
2	16	0,673	0,707	0,690 a
Média		0,691 x	0,656 x	
		----- 53 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,644	0,594	0,684 a
1	8	0,735	0,633	0,682 a
2	16	0,655	0,698	0,619 b
Média		0,682 x	0,642 x	
		----- 61 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,691	0,675	0,683 a
1	8	0,685	0,677	0,682 a
2	16	0,662	0,636	0,648 a
Média		0,679 x	0,662 x	
		----- 67 dias após a semeadura-----		
Controle	0	0,687	0,708	0,734 a
1	8	0,729	0,729	0,729 a
2	16	0,729	0,739	0,697 a
Média		0,715 x	0,725 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 33 – Altura (cm) das plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax 5®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 21 dias após a semeadura-----		
Controle	0	25,19	31,12	28,15 b [†]
1	8	43,82	39,37	41,59 a
2	16	29,00	33,44	31,22 a
Média		32,67 x [†]	34,64 x	
		----- 30 dias após a semeadura-----		
Controle	0	46,36	54,61	50,48 a
1	8	61,39	63,71	62,55 a
2	16	56,52	58,88	57,69 a
Média		54,75 x	59,06 x	
		----- 37 dias após a semeadura-----		
Controle	0	77,90	90,81	84,35 a
1	8	86,57	101,81	94,19 a
2	16	83,19	98,00	90,59 a
Média		82,55 x	96,87 x	
		----- 45 dias após a semeadura-----		
Controle	0	98,21	109,22	103,72 a
1	8	97,15	118,96	108,05 a
2	16	98,21	115,99	107,10 a
Média		97,86 y	114,72 x	
		----- 58 dias após a semeadura-----		
Controle	0	105,83	119,8	112,82 a
1	8	106,28	128,69	117,48 a
2	16	109,22	118,11	113,66 a
Média		107,10 y	122,02 x	
		----- 61 dias após a semeadura-----		
Controle	0	108,37	122,34	115,36 a
1	8	108,79	131,23	120,02 a
2	16	111,76	120,65	116,20 a
Média		109,64 y	124,74 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 34 – Altura (cm) das plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax 5®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- 25 dias após a semeadura-----		
Controle	0	19,70	21,80	20,75 b [†]
1	8	23,30	22,67	22,98 a
2	16	20,53	21,83	21,18 ba
Média		21,18 x [†]	22,10 x	
		----- 32 dias após a semeadura-----		
Controle	0	24,13	27,70	25,92 a
1	8	28,33	28,17	28,25 a
2	16	26,23	29,23	27,73 a
Média		26,23 x	28,37 x	
		----- 39 dias após a semeadura-----		
Controle	0	26,90	31,13	29,02 a
1	8	30,90	33,03	31,97 a
2	16	29,40	33,43	31,42 a
Média		29,06 y	32,53 x	
		----- 46 dias após a semeadura-----		
Controle	0	27,97	34,93	31,45 a
1	8	33,07	37,03	35,05 a
2	16	31,77	37,90	34,83 a
Média		30,93 y	36,62 x	
		----- 60 dias após a semeadura-----		
Controle	0	29,43	37,07	33,25 b
1	8	34,30	40,53	37,37 a
2	16	33,47	40,83	37,15 a
Média		32,40 y	39,44 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 35 – Produção de matéria seca da parte aérea e de raízes de plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax 5®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	-----peso parte aérea (g) -----		
Controle	0	34,67	45,90	40,28 a [†]
1	8	38,87	50,80	44,83 a
2	16	36,67	48,70	42,68 a
Média		36,73 y [†]	48,74 x	
		----- peso raízes (g) -----		
Controle	0	27,10	43,87	35,48 a
1	8	37,73	61,83	49,78 a
2	16	29,77	50,97	40,37 a
Média		31,53 y	52,22 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 36 – Produção de matéria seca da parte aérea e de raízes de plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax 5®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	-----peso parte aérea (g) -----		
Controle	0	23,27	27,07	25,16 a [†]
1	8	24,93	27,77	26,35 a
2	16	25,33	27,63	26,48 a
Média		24,51 y [†]	27,49 x	
		----- peso raízes (g) -----		
Controle	0	5,80	7,20	6,50 a
1	8	5,77	8,63	7,20 a
2	16	6,60	7,73	7,17 a
Média		6,06 y	7,86 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 37 – Atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) das plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax 5®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- SOD 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	1,69	1,65	1,67 a [†]
1	8	0,89	1,27	1,07 b
2	16	1,35	1,34	1,34 ab
Média		1,31 x [†]	1,42 x	
		----- SOD 61 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	1,15	0,48	0,81 a
1	8	0,75	0,83	0,79 a
2	16	0,75	0,80	0,77 a
Média		0,88 x	0,70 x	
		----- APX 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	33,63	30,15	31,88 a
1	8	23,75	27,28	25,52 a
2	16	15,74	18,72	17,23 a
Média		24,37 x	25,39 x	
		----- APX 61 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	28,52	9,10	20,28 a
1	8	14,13	13,91	18,81 a
2	16	19,54	21,03	14,02 a
Média		20,72 x	14,68 x	
		----- CAT 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	1094,4	1339,4	1217,2 a
1	8	907,7	1191,1	1049,4 a
2	16	1269,2	573,0	921,1 a
Média		1090,6 x	1034,5 x	
		----- CAT 61 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	449,6	751,2	600,4 a
1	8	1169,6	838,4	1004,0 a
2	16	953,1	568,7	760,9 a
Média		857,4 x	719,4 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 38 – Atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) das plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax 5®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- SOD 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	0,79	0,61	0,70 a [†]
1	8	0,53	0,61	0,57 a
2	16	0,69	1,94	1,32 a
Média		0,67 x [†]	1,05 x	
		----- SOD 68 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	0,86	1,84	1,35 a
1	8	0,58	0,48	0,53 b
2	16	0,26	0,34	0,30 b
Média		0,56 y	0,89 x	
		----- APX 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	18,62	22,42	20,52 a
1	8	22,47	23,41	22,39 a
2	16	46,26	25,04	35,65 a
Média		29,12 x	23,62 x	
		----- APX 68 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	22,69	34,83	28,76 a
1	8	36,3	34,52	35,41 a
2	16	37,69	34,50	36,10 a
Média		32,23 x	34,62 x	
		----- CAT 42 dias (unidade mg ⁻¹ proteína) -----		
Controle	0	377,8	169,7	273,8 a
1	8	324,3	622,5	473,4 a
2	16	305,4	265,9	285,6 a
Média		335,8 x	352,7 x	
		----- CAT 68 dias (unidade mg ⁻¹ proteína)-----		
Controle	0	215,4	466,04	340,7 a
1	8	659,9	258,13	459,0 a
2	16	416,3	480,30	448,3 a
Média		430,53 x	401,49 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 39 – Teor de proteína nas plantas de milho cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax 5®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- proteína 42 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	142,85	174,18	158,52 b [†]
1	8	282,27	174,93	228,60 a
2	16	232,85	194,93	213,89 ab
Média		219,32 x [†]	181,35 x	
		----- proteína 61 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	198,52	315,1	256,81 a
1	8	277,85	244,5	261,18 a
2	16	288,52	308,4	298,43 a
Média		254,96 x	289,32 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água

Tabela 40 – Teor de proteína nas plantas de soja cultivadas sob dois níveis de umidade do solo (com e sem estresse hídrico) em resposta à aplicação do bioestimulante Brotax 5®

Tratamento	Dose	Umidade do solo		
		50% CRA	90% CRA	Média
	(L ha ⁻¹)	----- proteína 42 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	465,60	431,27	448,43 a [†]
1	8	445,18	392,77	418,98 ab
2	16	355,93	291,10	323,52 b
Média		422,24 x [†]	371,71 x	
		----- proteína 68 dias (µg mL ⁻¹) -----		
Controle	0	415,77	341,35	378,56 b
1	8	404,18	394,18	399,18 ba
2	16	450,68	417,60	434,14 a
Média		423,54 x	384,38 x	

[†] = médias em cada coluna (a,b) ou linha (x,y) seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t; CRA = capacidade de retenção de água