



THAÍS BARBOSA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ARBOLINA EM PLANTAS DE
Milho (*Zea mays*) SOB ESTRESSE SALINO**

**LAVRAS-MG
2023**

THAÍS BARBOSA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ARBOLINA EM PLANTAS DE MILHO (*Zea mays*)
SOB ESTRESSE SALINO**

Monografia apresentada ao Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Dra. Antonia Almeida da Silva	UFLA
Me. Rafaella de Paula Avelar	UFLA
Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori	UFLA

Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori
Orientador

LAVRAS-MG

2023

*Dedico este a todos que me apoiaram e
fizeram parte desta trajetória!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força, coragem e sabedoria durante toda esta jornada.

Aos meus pais, por todo o incentivo, disciplina, amor e por acreditarem nesse sonho junto comigo.

Às minhas irmãs que foram minhas companheiras, minha inspiração e amigas de toda trajetória.

Ao meu namorado, por todo apoio, ajuda e incentivo.

Aos meus amigos, que sempre acreditaram e torceram por mim.

À UFPA pela oportunidade de cursar em uma das melhores Universidades do país.

Ao Paulo César, Paulo Cássio, Ludmila, Gustavo, Rafaela, Kawu, Daniela e a todos do setor da fisiologia vegetal que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho acontecesse.

A todos os meus professores que ao longo da minha graduação, contribuíram com seus conhecimentos e experiências.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori, pela paciência, dedicação, confiança e conhecimento compartilhado nesta minha trajetória.

À minha coorientadora, Dra. Antonia Almeida da Silva, por toda ajuda, paciência, ensinamento, orientação e amizade.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e colaboração intelectual.

A todos que ajudaram e fortaleceram a minha caminhada de alguma forma, minha gratidão.

RESUMO

O milho é um alimento de grande importância nutricional, cultivado em grande parte do mundo com a finalidade de alimentação humana e animal. É uma das culturas mais importantes do Brasil e vem superando recordes de produção todo ano. Um dos fatores que podem limitar o crescimento e a produção dessa cultura é o estresse salino, visto que o milho é considerado uma espécie de moderada tolerância à salinidade e com isso sofre redução do crescimento com o aumento da concentração de sais em sua rizosfera. Uma estratégia que vem sendo utilizada a fim de minimizar os efeitos causados por esse estresse é o uso de bioestimulantes, que promovem respostas no incremento da produtividade das culturas, sobretudo em áreas que as plantas são cultivadas sob estresse, há estudos que mostram melhoras no sistema de defesa da planta contra estresses abióticos. Com base nisso, o objetivo desse trabalho é analisar as respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas induzidas pelo bioestimulante Arbolina em plantas de milho em condições de estresse salino. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia na Universidade Federal de Lavras (UFLA) e o híbrido utilizado foi o VT PRO3 (Bayer®, Brasil). Foi utilizado o delineamento em blocos inteiramente casualizado, com um fatorial 2x2, correspondendo a duas concentrações de NaCl (0 μ M e 50 μ M), duas condições de aplicação de Arbolina (0 ml/ha e 150 ml/ha). Foram realizadas três coletas (33 DAS, 50 DAS e 144 DAS), com 5 repetições, totalizando 60 plantas. Foram realizadas análises biométricas como altura das plantas, diâmetro do colmo, número de folhas, área foliar, massa seca de raiz e parte aérea e análises bioquímicas, SOD, CAT e H₂O₂. Fotossíntese, condutância estomática e transpiração também foram mensuradas. Ao final do ciclo, os componentes de produção foram determinados: número de espigas, peso da espiga, MS PA, MS Raiz e estimada a produtividade. Com base nesse estudo, concluiu-se que a arbolina não minimizou os danos causados pelo estresse salino e não trouxe ganhos de produtividade em relação ao controle e tampouco nas plantas sob estresse salino.

Palavras-chave: Enzimas; Estresse abiótico; Bioestimulante

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REFERENCIAL TEÓRICO	2
2.1	Importância econômica.....	2
2.2	Efeito do estresse salino no milho.....	3
2.3	Bioestimulantes vegetais.....	4
3	MATERIAL E MÉTODOS	5
3.1	Teste de Germinação	5
3.2	Preparo do solo e semeadura.....	6
3.3	Coletas de dados de avaliações	6
3.4	Análises de trocas gasosas.....	7
3.4	Análises bioquímicas	7
3.5	Análise foliar	7
3.5	Delineamento e condições experimentais	8
3.6	Análise estatística.....	8
3	RESULTADOS	9
4	DISCUSSÃO	18
5	CONCLUSÃO.....	21
	REFERÊNCIAS	22
	APÊNDICES.....	25

1 INTRODUÇÃO

Em regiões áridas e semiáridas é comum a ocorrência de solos salinos e sódicos. Isso se deve às condições climáticas dessas regiões, como a baixa precipitação associada a alta evapotranspiração, o que favorece a prática da irrigação (PEREIRA, 1983; AHMAD et al., 2012). A utilização de água inapropriada para irrigação pode conter sais dissolvidos em proporções diversas que ascendem até as camadas superficiais decorrente do processo de evaporação. Quando em grandes concentrações, esses sais trocáveis ou solúveis, têm a capacidade de interferir ou reduzir o desenvolvimento e produtividade das culturas.

A salinidade pode afetar processos fisiológicos nas plantas, destacando-se dentre eles a fotossíntese, que pode ser inibida devido ao acúmulo de íons tóxicos como o Na^+ e/ou Cl^- nos cloroplastos e conseqüentemente afetam as atividades bioquímicas e fotoquímicas da fotossíntese. Além disso, também ocorre a seca fisiológica nas plantas causada pela redução do potencial osmótico na solução do solo (GOMES et al., 2011), dificultando a absorção de água pelo sistema radicular. Uma vez absorvido, esses sais causam redução do potencial osmótico do citosol, prejudicando a atividade celular.

Como resposta, as plantas podem acumular solutos orgânicos compatíveis, como carboidratos solúveis, N-aminossolúveis, prolina e glicina betaína, sendo esses importantes para a osmorregulação das plantas, o que pode levar a tolerância a esse estresse abiótico. Em plantas submetidas a estresse, esse aumento na concentração de solutos exerce um papel essencial no equilíbrio osmótico e na preservação de enzimas expostas a elevadas concentrações de eletrólitos no citoplasma (CAMARA et al., 2000). Assim, é interessante buscar e estudar estratégias que possam induzir esses mecanismos nas plantas em condições de estresse.

A utilização de bioestimulantes tem ganhado força na agricultura do Brasil, uma vez que promove o crescimento e aumenta a produtividade das culturas, no entanto, ainda é inicial as pesquisas sobre a utilização dessas substâncias em plantas sob estresse, sobretudo em estresse salino. O uso de bioestimulantes tem sido visto como uma alternativa para ajudar as plantas a superar estresses abióticos, tendo em vista que agem como incremento nutricional e hormonal (OLIVEIRA et al., 2016). Nesse sentido, a arbolina utilizada em situações de estresse, tem promovido aumento na produtividade das culturas, melhorando o processo fotossintético e o desenvolvimento de várias culturas. A planta fica mais tolerante ao estresse hídrico através da redução na transpiração o que favorece o uso eficiente da água, fazendo

com que a planta necessite de menos água para produzir. Esse mecanismo pode ser favorável também para as plantas em condições de estresse salino, visto que um dos problemas da salinidade é causar o estresse osmótico nas plantas sensíveis.

Segundo Maas e Hofman (1977) o milho (*Zea mays*) é uma cultura moderadamente tolerante à salinidade e quando ultrapassado o limite tolerável ocorre perdas no seu rendimento. Em estudos realizados sobre o efeito da salinidade no milho, foi constatado que devido ao aumento dos sais no solo em decorrência de uso de água na irrigação com baixa qualidade, ocasionou em redução significativa da produção de matéria seca, área foliar útil e total, transpiração, crescimento absoluto e relativo, taxas de assimilação líquida, fotossíntese, condutância estomática, eficiência no uso da água e produtividade (OLIVEIRA et al., 2016). Portanto, devido à importância econômica que tem o milho na agricultura brasileira é relevante encontrar alternativas que favoreçam maiores produtividades em ambientes onde ocorre esse tipo de estresse.

A arbolina é uma molécula encontrada em plantas e foi sintetizada em laboratório como produto comercial Arbolin Biogenesis (Krilltech®, Brasil). Segundo a empresa, a arbolina biofortifica e biofertiliza de maneira atóxica, além de ajudar a planta a se autorregular por meio da interação com a proteína-alvo em situações de estresses e por ser uma nanotecnologia, é de mais fácil absorção pelas plantas, isso a fim de melhorar o resultado final de produção e de colheita.

Assim, foi testado a hipótese de que a aplicação de arbolina, em plantas de milho sob estresse salino, ameniza os efeitos deletérios causados por esse estresse, além de induzir mecanismos de tolerância. Portanto, o objetivo desse trabalho é analisar as respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas induzidas por arbolina em plantas de milho em condições de estresse salino.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância econômica da cultura do milho

O milho se destaca como uma das commodities mais importantes do agronegócio do Brasil, consolidado como o terceiro maior produtor mundial desse cereal, atrás apenas dos Estados Unidos e China e segundo maior exportador (CONAB, 2022). Dentro desse cenário, o Brasil com uma área cultivada de 22 milhões de hectares e produção estimada de 313 milhões de toneladas de milho (CONAB, 2022).

Esse posicionamento do Brasil como país estratégico no desafio de alimentar a humanidade, considera além do eminente aumento populacional, a necessidade de aumentar a produtividade (VIEIRA et al., 2019).

Dos recursos tecnológicos imprescindíveis para o aumento dessa produtividade e manutenção da competitividade do agronegócio brasileiro, investe-se muito em pesquisa genética aplicada ao melhoramento de plantas, impulsionando o desenvolvimento de novos híbridos de milho a cada dia. Atualmente no país, mais de 95% das sementes utilizadas para plantio são de milho híbrido (CONAB, 2022).

Estados de Mato Grosso, Paraná, Mato Grosso do Sul, Goiás e Minas Gerais despontam como os estados que apresentam as maiores áreas cultivadas e conseqüentemente, expressivo aumento em produção (CONAB, 2022). A produtividade do milho no Brasil vem atingindo excelentes ganhos nestes últimos anos, principalmente em relação à última safra 2021/22 (CONAB, 2022).

2.2 Efeito do estresse salino no milho

Tolerâncias a estresses ambientais como salinidade das plantas podem ser determinadas usando diferentes parâmetros. As plantas precisam ter mecanismos especiais para ajustar as condições osmóticas internas e alterar a pressão osmótica no ambiente radicular. As plantas estressadas diminuem o potencial osmótico acumulando aminoácidos livres, íons e substâncias solúveis.

O estresse causado pela salinidade induz diferentes respostas nas plantas, incluindo alterações fisiológicas, morfológicas, bioquímicas e moleculares (GUPTA; HUANG, 2014; ABREU et al., 2013), conseqüentemente, causa o desequilíbrio iônico, resultando em toxicidade, estresse osmótica e espécies reativas de oxigênio (ROS) (CHAWLA et al., 2013).

Situações de estresse causam aumento da produção de derivados tóxicos do oxigênio (SMIRNOFF, 1993). Para neutralizar a toxicidade das espécies ativas de oxigênio, um complexo sistema de defesa antioxidante, composto por constituintes não enzimáticos e enzimáticos, está presente em todas as células vegetais (FOYER et al., 1994). Em resposta ao aumento da produção de radicais de oxigênio a capacidade do sistema de defesa antioxidante é aumentada, mas na maioria das situações a resposta é moderada (FOYER, 1994). O estresse salino pode induzir condições de estresse oxidativo (RIOS-GONZALEZ et al., 2002).

As enzimas antioxidantes desempenham papéis importantes na adaptação às condições de estresse. As plantas lidam com o acúmulo de ROS induzido pelo estresse induzindo sistemas antioxidantes que podem ser enzimáticos, como: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), Ascorbato peroxidase (APX) (MUNNS; TESTER, 2008).

Dentre os fatores que limitam diretamente o crescimento, desenvolvimento e a produção de plantas cultivadas, está o estresse salino com modificações estruturais, morfológicas e metabólicas (SILVA, et al., 2016).

A salinidade do solo afeta a produção vegetal em muitas partes do mundo, particularmente em cultivos irrigados (EPSTEIN et al., 1980; HAMDIA; SHADDAD, 2010). NaCl é o sal predominante na maioria dos ambientes salinos. Muitas espécies de cultivo são sensíveis a altas concentrações de sal com impactos negativos na produção agrícola. O milho é considerado uma planta moderadamente sensível ao sal (RICHARDS, 1974; DAKER, 1976). A resistência das plantas ao sal é um fenômeno complexo que envolve processos bioquímicos e fisiológicos, bem como alterações morfológicas e de desenvolvimento.

Concentrações de sais solúveis no solo é um dos principais fatores limitantes ao crescimento e desenvolvimento de diversas culturas (LACERDA et al., 2011). Para Munns (2005) ocorre uma interferência direta no desenvolvimento da cultura devido ao efeito osmótico, com alta salinidade, a planta absorve menores teores de água, e com relação aos efeitos diretos dos íons em excesso prejudica a transpiração da cultura e conseqüentemente gera injúrias que prejudicam diretamente os tecidos vegetais.

2.3 Bioestimulantes vegetais

Por definição, os bioestimulantes são misturas de um ou mais reguladores de crescimento com outros compostos de natureza química diferente, como sais minerais (CASTRO; PEREIRA, 2008), que promovem o equilíbrio hormonal e estimulam o crescimento de plantas (SILVA et al., 2008) devido à mecanismos de ação, principalmente ao usar produtos compostos por reguladores de crescimento (TAIZ et al., 2017). O bioestimulante vegetal é qualquer substância ou microrganismos aplicados às plantas que apresenta o objetivo de aumentar sua eficiência nutricional, tolerância ao estresse abiótico e outras características de qualidade da cultura (JARDIN, 2015; KAUFMAN et al., 2007).

Na categoria de bioestimulantes, pode ser apresentada subdivisão de quatro grupos, abrangendo tanto substâncias quanto microrganismos, são os microrganismos incluindo bactérias benéficas, endofíticas, rizosférica ou endossimbióticas (HALPERN et al., 2015), hidrolisados de proteínas e outros compostos contendo N (HALPERN et al., 2015; VRANOVA et al., 2011) substâncias húmicas e fúlvicas (ROSE et al., 2014) e extratos de algas (COLLA et al., 2014).

Os bioestimulantes vegetais aumentam a produtividade das culturas e induzem processos benéficos nas plantas (MARTINS, et al., 2016). A introdução de produtos bioestimulantes nos sistemas produtivos é vista como uma oportunidade e, embora não exista uma legislação específica para esse grupo de produtos, pesquisas continuam sendo realizadas para melhorar o desempenho de diferentes culturas, como o milho (OLIVEIRA et al., 2016) e o próprio milho doce (CUNHA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016).

No contexto dos custos relacionados ao sistema de produção, observa-se que o tratamento com produtos bioestimulantes é um procedimento que pouco onera os produtores rurais (KOLLING, 2016). Isso se deve principalmente às baixas concentrações de reguladores vegetais necessários para incorrer em mudanças no sistema fisiológico da planta (TAIZ et al., 2017). Dessa forma, pequenos aumentos de produtividade são suficientes para cobrir os investimentos na aquisição dessa tecnologia.

Além disso, a ação bioestimulante pode favorecer o desempenho vegetativo e reprodutivo quando aplicada nas fases iniciais devido às características de desenvolvimento da cultura do milho, melhorando as condições nutricionais da cultura (CUNHA et al., 2016) e aumentando a divisão celular e taxas de expansão (TAIZ et al., 2017), desde que sejam implementadas doses ótimas do produto. Boas condições nutricionais e fisiológicas são determinantes para a cultura, tendo em vista que determinar o potencial produtivo e vegetativo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Teste de germinação

Foi realizado conforme a metodologia descrita na Regra para Análise de Sementes (RAS, 2009). Foi utilizado 6 tratamentos, sendo eles: T1- Controle; T2- Arbolina; T3- 50 mM NaCl; T4- 100 mM NaCl; T5- Arbo+50 mM NaCl; T6- Arb+ 100 mM NaCl. Cada tratamento teve 6 repetições de 20 sementes e o volume de solução utilizada para irrigação foi

de 2,5 vezes o peso do papel. Após a montagem das sementes no papel, foram levadas para BOD a uma temperatura de 25° C e uma luminosidade de 12 h de luz. A primeira contagem foi feita no 4° dia e o teste durou 7 dias. Ao final, foram medidos comprimento de radícula e parte aérea e calculada a porcentagem de germinação.

3.2 Preparo do solo e Semeadura

Foi feita a análise do solo, no Departamento de Ciências do Solo da UFLA e de acordo com os parâmetros encontrados no resultado dessa análise foram realizadas as devidas correções nutricionais a fim de elevar para níveis adequados e atender as exigências da planta. Foi feita adubação de plantio de acordo com a recomendação de Malavolta (1981), onde recomenda 300mg/dm³ de N, 200mg/dm³ de P, 150mg/dm³ de K, 75mg/dm³ de Ca, 15mg/dm³ de Mg, 50mg/dm³ de S, 0,5mg/dm³ de B e 5mg/dm³ de Zn. As fontes utilizadas foram com soluções de Fosfato de amônio, Cloreto de potássio, Sulfato de Magnésio, e solução de micronutrientes, Cloreto de Cálcio, as quais foram convertidas na dose que atendia as recomendações, e para micro foi utilizado solução estoque numa dose de 10 ml por vaso. Na adubação de cobertura foi utilizada fonte formulada de N-P-K na dose 4-14-8. Os vasos utilizados continham volume de 10 dm³ e foram identificados com etiquetas de acordo com seus respectivos tratamentos, em seguida enchidos com solo previamente misturado com areia numa proporção de 2:1.

As sementes utilizadas foram do híbrido VT PRO3, de porte de 240-266 cm, ciclo precoce e possui tolerância a doenças como: Ferrugem comum (*Puccinia sorghi*), Ferrugem Polissora (*Puccinia polysora*), Cercospora (*Cercospora zea-maydis*), Mancha branca (*Phaeosphaeria maydis*), Turcicum (*Exserohilum turcicum*) (Bayer, 2022). No plantio, o solo foi molhado e feito 5 furos pequenos nos quais colocou-se uma semente por furo e cobriu com solo.

3.3 Coletas de dados de avaliações

No período de condução do experimento em casa de vegetação foram feitas avaliações biométricas e de crescimento, onde foram realizados contagem do número de folhas (NF), altura do colmo (AC), diâmetro do colmo (DC) e área foliar (AF). Ao final de cada coleta, as plantas foram separadas em folha e colmo (PA), raiz, espigas e foram identificadas de acordo com os tratamentos e colocados em estufa para a secagem à 75 ° C por 72 horas. Foram

feitas avaliações de produção, como número de espigas por planta, número de fileiras por espigas, número médio de grãos por espiga, peso de mil grãos, peso da espiga. Na segunda coleta, foram coletadas folhas para análise nutricional.

3.4 Análises de trocas gasosas

As análises de trocas gasosas foram realizadas nos dias das coletas 1 e 2, antes de coletar as folhas para análises bioquímicas com auxílio de um analisador portátil de CO₂ infravermelho, modelo (LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, EUA). As avaliações foram realizadas na folha +2, nos horários de 10:00 às 12:00 horas, com radiação fotossinteticamente ativa (Q) fixada em 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Foram considerados a taxa líquida de assimilação de CO₂ ($A = \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática ($g_s = \text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e taxa transpiratória ($E = \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

3.5 Análises Bioquímicas

As amostras de folhas +1 e de raízes foram coletadas em nitrogênio líquido aos 33 DAS e 50 DAS e imediatamente transferidas para conservação em freezer a -80 °C. Para obtenção dos extratos enzimáticos foram utilizados 2mg de tecidos foliares e radiculares que foram macerados em nitrogênio líquido acrescido de PVPP (Polivinilpolipirrolidona) insolúvel, e adicionado 1,5 mL do tampão de extração composto de: Fosfato de potássio 400 μM (pH 7,8), EDTA 10 μM e ácido ascórbico 200 μM . A partir da homogeneização em centrifuga a 13.000g por 10 minutos a 4 °C, foi obtido o sobrenadante para quantificação das atividades das enzimas superóxido desmutase (SOD), catalase (CAT).

Para quantificação do H₂O₂ foi utilizado 2mg de tecidos foliares macerados em N₂ líquido, homogeneizados em 5 mL de TCA e centrifugados a 12.000 g por 15 minutos, a 4 °C. A absorbância foi medida a 390 nm em um meio de reação, contendo tampão fosfato de potássio 100 μM , pH 7,0 e 1 mL de iodeto de potássio (VELIKOVA; YORDANOV; EDREVA, 2000).

3.6 Análise foliar

Aos 50 dias após a semeadura (2ª coleta), foi realizada a coleta de folhas que foram moídas sem a nervura central e encaminhadas ao laboratório de análise da UFLA, para quantificar os nutrientes absorvidos pela planta, sobretudo, o NaCl.

3.7 Delineamento e condições experimentais

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia na Universidade Federal de Lavras (UFLA) e o delineamento experimental utilizado foi o DBC, com quatro (4) tratamentos, cinco (5) repetições e três coletas totalizando 60 plantas.

Os tratamentos foram divididos em plantas sem NaCl e sem aplicação de arbolina (T1), sem estresse salino e com aplicação de arbolina (T2), com estresse salino e sem arbolina (T3), com estresse salino e com arbolina (T4).

Nos vasos em que as plantas receberam NaCl, foram colocadas bandejas de plásticos para coletar a solução percolada após a irrigação e assim devolver ao vaso, evitando a diluição da concentração. A irrigação foi realizada diariamente conforme necessidade da cultura, mantendo sempre na capacidade de campo.

As plantas que passaram pelo estresse salino foram plantadas no solo sem NaCl e 20 dias após o plantio foi adicionada a solução com cloreto de sódio na concentração 50 mM. A solução foi adicionada de forma parcelada com 25 Mm aos 20 DAS e dois dias após a adaptação das plantas à salinidade, foi adicionado mais 25 mM, totalizando 50 Mm. 20 Dias após a semeadura foi feito o desbaste das plantas deixando uma planta por vaso. A aplicação da arbolina foi feita 6 dias após o início do estresse salino, na dose recomendada pelo fabricante de 150 ml para 90l de calda, para um stand de 60.000 plantas que foi convertido para a dose para uma planta por vaso, resultando numa dose de arbolina de 2,5 microlitros para 1,5 ml de calda por planta para cada vaso, numa concentração de 1,66 ml/l de arbolina. Foram feitas 3 aplicações de arbolina, nos estádios fenológicos, V7, V8, V9, respectivamente. As aplicações foram feitas com borrifador manual e em horários de temperaturas mais amenas, início da manhã ou fim de tarde e foi adicionado um espalhante Gotamax (Yara Brasil) na calda para ajudar na quebra da tensão superficial da folha e melhorar a absorção do produto pela planta. A primeira coleta foi realizada 33 dias após a semeadura e a segunda aos 50 dias após semeadura, a última coleta foi aos 144 dias após a semeadura.

3.8 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variação, as médias foram comparadas pelo teste de Skott-knott ao nível de 5% de probabilidade de erro (RStudio). Os gráficos foram gerados no programa Excel (2016).

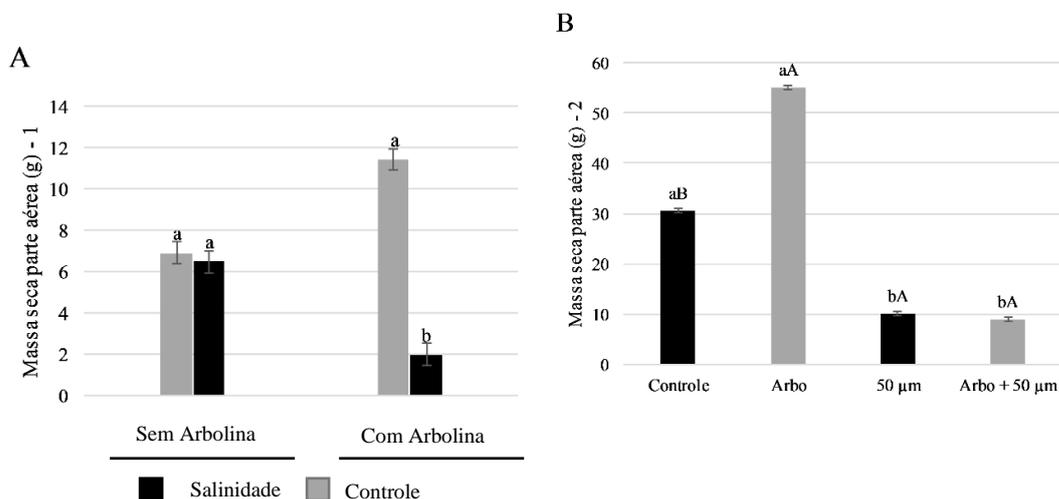
4 RESULTADOS

4.1 Acúmulo de matéria seca de parte aérea e raiz, número de folhas, área foliar, altura de plantas e diâmetro de colmo

Na coleta aos 33 DAS, não foi observada diferença no acúmulo de massa seca de parte aérea (MSPA) (Figura 1A) no fator arbolina, em constraste, observou-se diferença estatística entre os tratamentos com estresse salino, em que plantas com estresse e sem arbolina acumularam maiores teores de matéria seca.

Na coleta realizada aos 50 DAS, quando as plantas estavam em maior estágio fenológico na variável MSPA, houve interação entre os fatores arbolina x salinidade. O tratamento com arbolina sem estresse salino apresentou maiores médias de MSPA, já os tratamentos com ES (50 mM) e Arbo + 50 mM, foram semelhantes estatisticamente entre si, com os menores acúmulo de matéria seca (Figura 1B) em relação às plantas sem estresse salino.

Figura 1 - Acúmulo de matéria seca de parte aérea aos 33 dias (A) e 50 dias (B) após a semeadura. Tratamentos com letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre os fatores arbolina e salinidade.

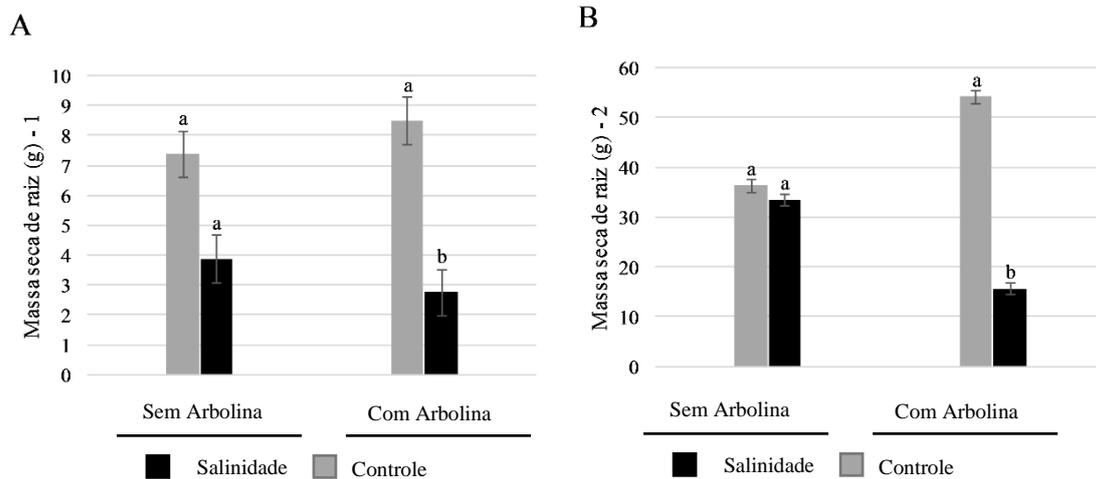


O acúmulo de MSR nos tratamentos com e sem arbolina foi igual estatisticamente, diferente do fator salinidade, o qual apresentou diferenças estatísticas entre os valores (Figura 2A), em que o tratamento salino com arbolina obteve o menor acúmulo.

Na coleta realizada aos 50 DAS, o tratamento com arbolina não se diferiu estatisticamente do tratamento sem arbolina, já para o fator salinidade, com arbolina foi

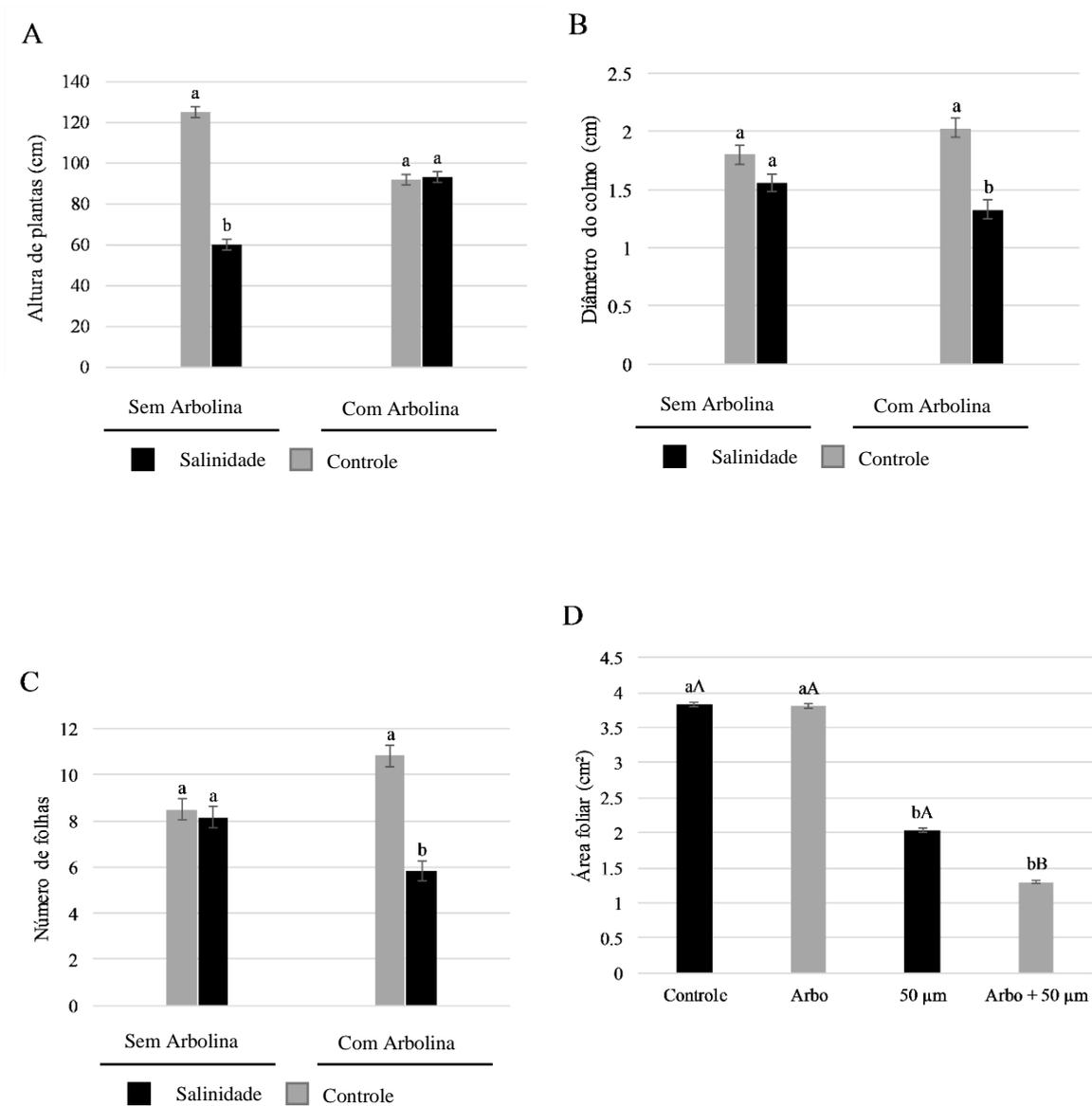
observado redução na massa seca de raiz em relação ao tratamento com salinidade sem arbolina (Figura 2B).

Figura 2 - Acúmulo de matéria seca de raiz coleta aos 33 dias (A) e 50 dias (B) após a semeadura. Tratamentos com letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre os fatores arbolina e salinidade.



Na análise de altura de plantas (AP), não houve interação entre os fatores arbolina e salinidade (Figura 3A). Para o tratamento com arbolina e sem arbolina não houve diferença estatística, já para o tratamento com estresse salino, houve diferenças, com a menor altura de plantas para o tratamento com salinidade sem arbolina. Para as variáveis diâmetro de colmo e número de folhas, não houve interação entre os fatores, o tratamento com estresse salino mais arbolina foi o tratamento que apresentou os menores valores (Figura 3B; 3C). Houve interação significativa entre os fatores salinidade x arbolina na variável área foliar (Figura 3D). Os tratamentos com e sem arbolina foram semelhantes entre si enquanto os tratamentos com salinidade apresentaram menor [área foliar em relação a esses. Dentro dos tratamentos salinos, o tratamento combinado com arbolina apresentou menor área foliar.

Figura 3 – Altura de plantas (A); Diâmetro do colmo (B); Número de folhas (C) e Área foliar (cm^2) aos 50 dias após a semeadura. Tratamentos com letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre os fatores arbolina e salinidade.

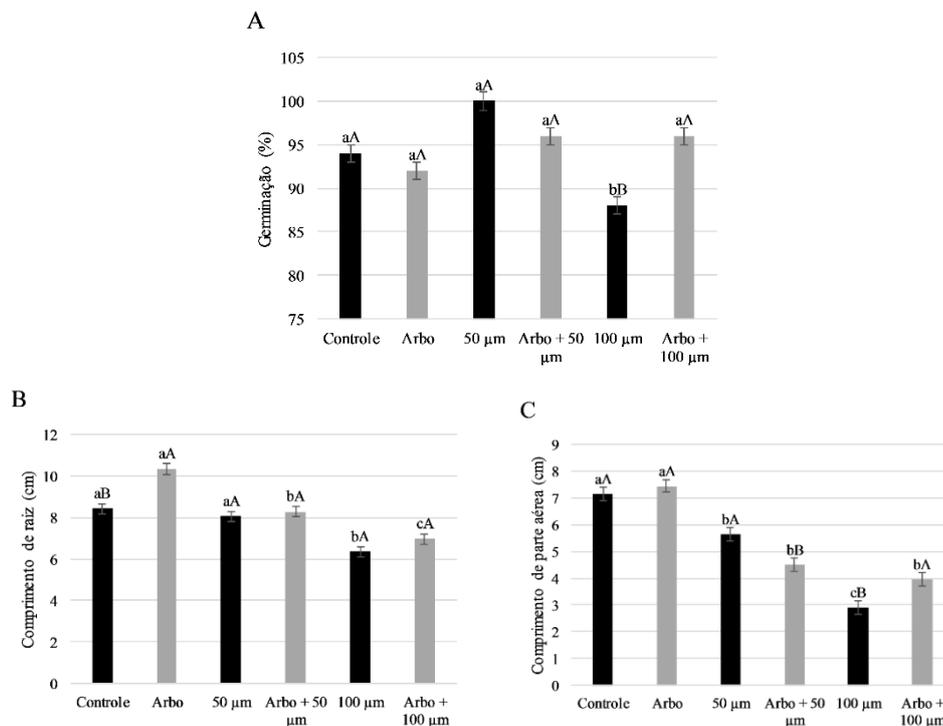


4.2 Teste de germinação, comprimento de raiz e comprimento de parte aérea, matéria seca de parte aérea e de raiz, peso de espiga e produtividade

A germinação de sementes de milho não foi afetada negativamente pelos tratamentos adotados no experimento (Figura 4A), houve interação significativa entre os fatores de salinidade x arbolina. Pode-se observar um incremento na porcentagem de germinação das plantas proporcionadas pelo tratamento com 50 mM de NaCl, com 100% de germinação de sementes, seguidas dos tratamentos Arbo+50 mM com resultados superiores a 94% da taxa de germinação. O tratamento com menor percentual de germinação de sementes foi o com 100 mM de NaCl.

Para as variáveis de comprimento de raiz, o tratamento com Arbolina destacou-se com maior valor, seguido dos tratamentos 50 mM e Arbo+50 mM com os maiores comprimentos de radícula. O tratamento que interferiu no desenvolvimento radicular caracterizando o menor comprimento foi o tratamento de 100 mM de NaCl sem arbolina (Figura 4B). Os valores da variável de comprimento de parte aérea se mantiveram proporcional aos resultados obtidos no comprimento de raiz (Figura 4C).

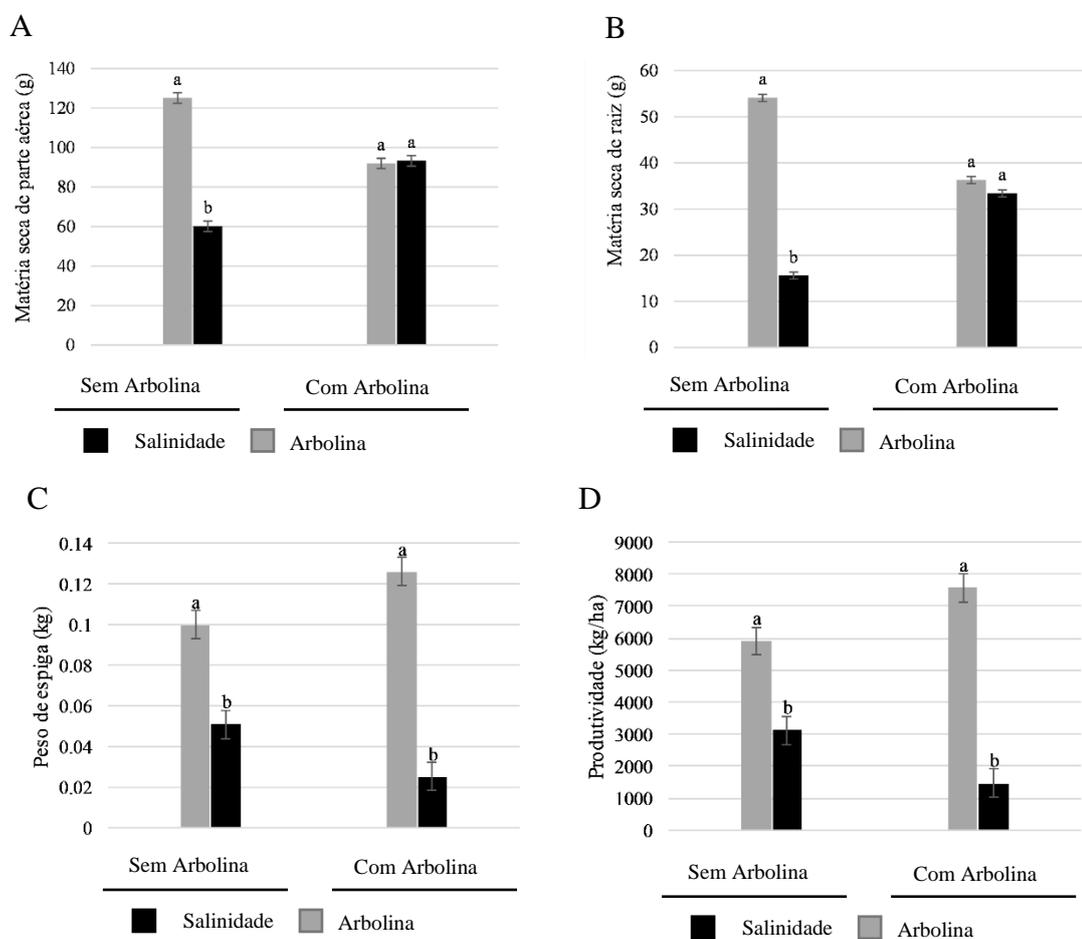
Figura 4 – Teste de qualidade de sementes: (A) Germinação de sementes; (B) Comprimento de raiz (C) Comprimento de Parte Aérea. Tratamentos com letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$), letras minúsculas comparam as cores expressas nos gráficos, letras maiúsculas compararam a combinação entre os pares: Controle x Arbo; 50mM x Arbo + 50mM e 100 x Arbo +100mM.



Para os resultados referentes a massa seca de parte aérea (Figura 5A) os tratamentos com aplicação de arbolina e sem aplicação de arbolina foram semelhantes estatisticamente, enquanto para o fator salinidade houve diferença estatística, onde no tratamento sem arbolina apresentou redução de matéria seca de parte aérea. Para os valores referentes ao acúmulo de matéria seca de raiz (Figura 5B), não houve diferença estatística para o fator arbolina. Em contrapartida, para o fator salinidade é possível observar que diferiram estatisticamente, em que quando o estresse salino isolado, apresentou redução no acúmulo de matéria seca de raiz. Para os resultados de matéria seca de espiga (Figura 5C) o fator arbolina não deu diferença

para os tratamentos com e sem arbolina, o mesmo aconteceu para o fator salinidade. Na análise de produtividade, não se observa diferença estatística para nenhum dos fatores (Figura 5D). De forma geral, produtividade foi maior no controle e os tratamentos salinos independentes da aplicação ou não da arbolina apresentaram menor produtividade.

Figura 5 – Massa seca de parte aérea (A); Massa seca de raiz (B); Peso de espiga (C); Produtividade (D). Tratamentos com letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

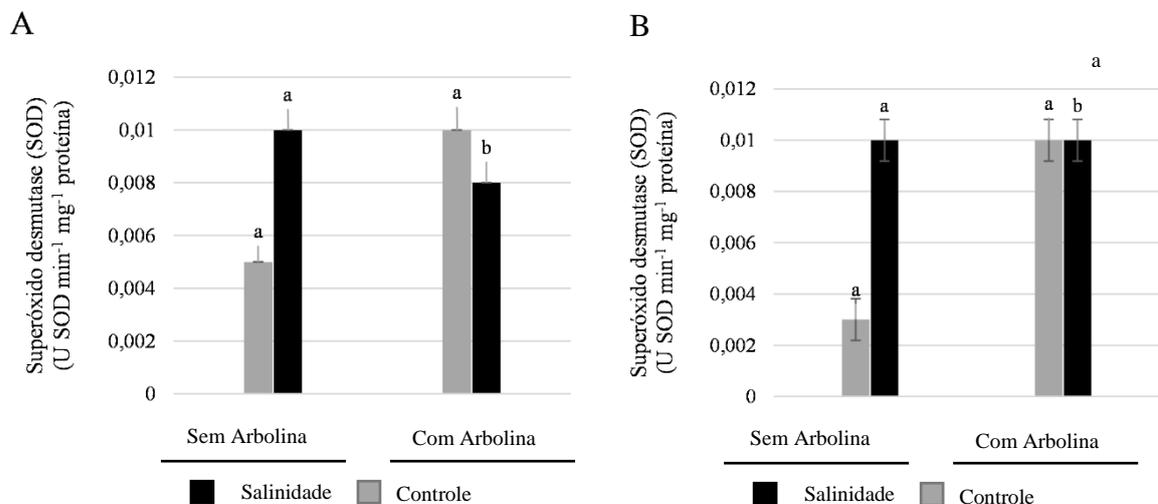


4.3 Análise bioquímica

A condição de estresse salino para as coletas realizadas aos 33 DAS (Figura 6A) e 50 DAS (Figura 6B) não apresentou interação nos resultados de atividade de superóxido dismutase (SOD), para arbolina e sem arbolina, as médias foram estatisticamente semelhantes entre si. Para condições de estresse salino e sem estresse houve diferença estatística, onde ES+arbo apresentou menor atividade de SOD. Na avaliação aos 50 DAS não houve interação

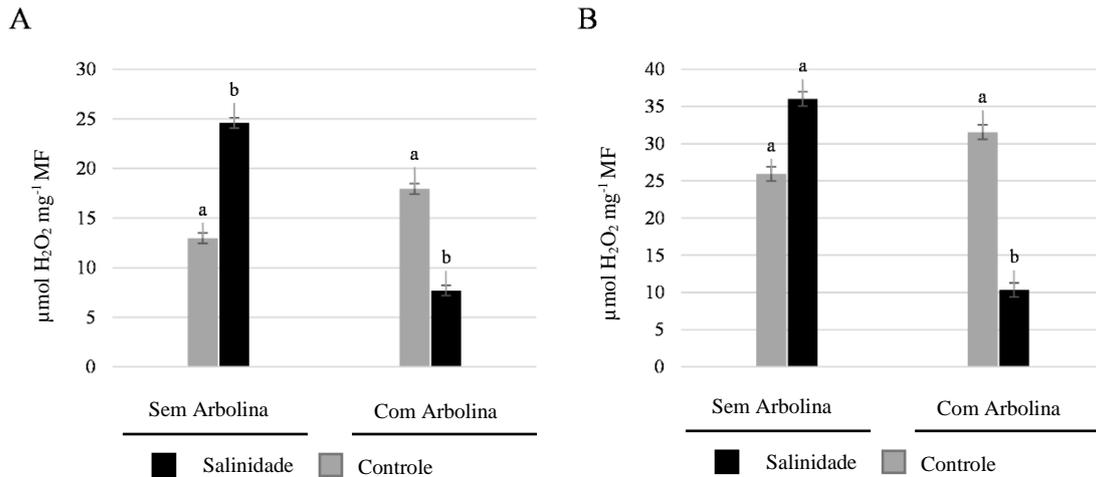
entre os fatores, não houve diferenças estatística entre arbolina (com e sem) e salinidade (com e sem).

Figura 6 – Efeito de arbolina sobre a enzima superóxido dismutase (SOD) de folhas de milho após 33 (A) e 50 (B) dias após a semeadura. Tratamentos com letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre os fatores arbolina e salinidade.



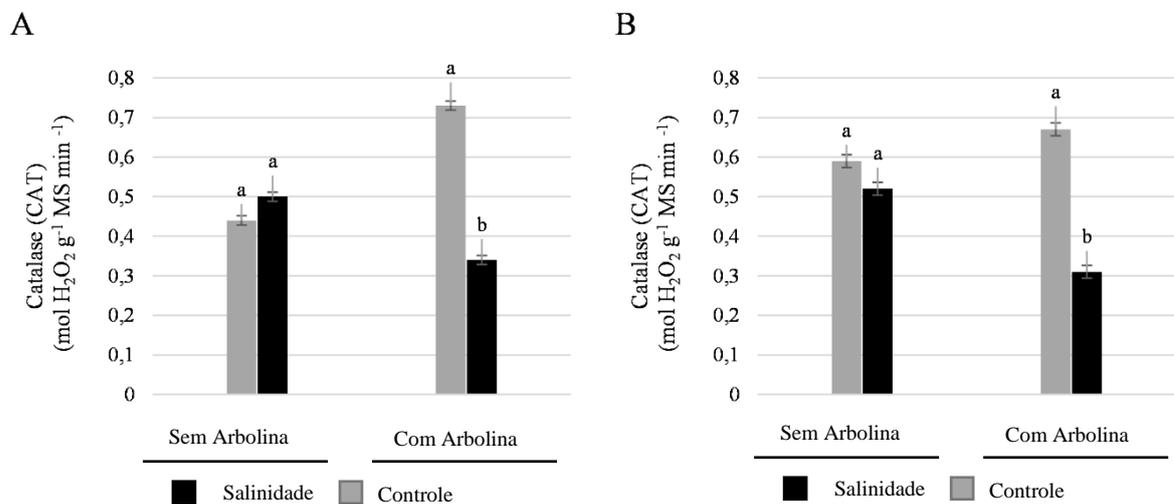
Não houve interação entre os fatores arbolina x salinidade aos 33 DAS e 50 DAS na atividade de H₂O₂ em folhas de milho (Figura 7A e B). O tratamento com arbolina não diferiu estatisticamente do tratamento sem arbolina, o tratamento com estresse salino mais arbolina apresentou menor atividade de H₂O₂ em comparação ao tratamento com estresse salino isolado, aos 33 DAS. Aos 50 DAS, houve diferença significativa somente para os tratamentos com estresse salino com e sem arbolina.

Figura 7 – Efeito de arbolina sobre atividade de H₂O₂ de folhas de milho após 33 (A) e 50 (B) dias após a semeadura. Tratamentos com letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre os fatores arbolina e salinidade.



Plantas de milho sob estresse salino apresentaram diferença estatística, enquanto para o fator arbolina, foram semelhantes entre si aos 33 DAS (Figura 8A). O mesmo comportamento foi observado aos 50 DAS (Figura 8B).

Figura 8 – Efeito de arbolina sobre a enzima catalase (CAT) em folhas de milho após 33 (A) e 50 (B) dias após a semeadura. Tratamentos com letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre os fatores arbolina e salinidade.



4.4 Análises fotossintéticas

O tratamento com Arbolina isolado, influenciou positivamente as análises de trocas gasosas (Figura 9 A, B, C e 10 A, B e C), sendo elas taxa líquida de assimilação de CO₂, condutância estomática e a taxa transpiratória da cultura do milho na primeira e segunda coleta. A salinidade mais arbolina comprometeu as trocas gasosas, causando redução.

Figura 9 - (A) Fotossíntese (B) Condutância estomática (C) Transpiração da cultura do milho submetidas a aplicação de arbolina e estresse salino. Tratamentos com letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre os fatores arbolina e salinidade.

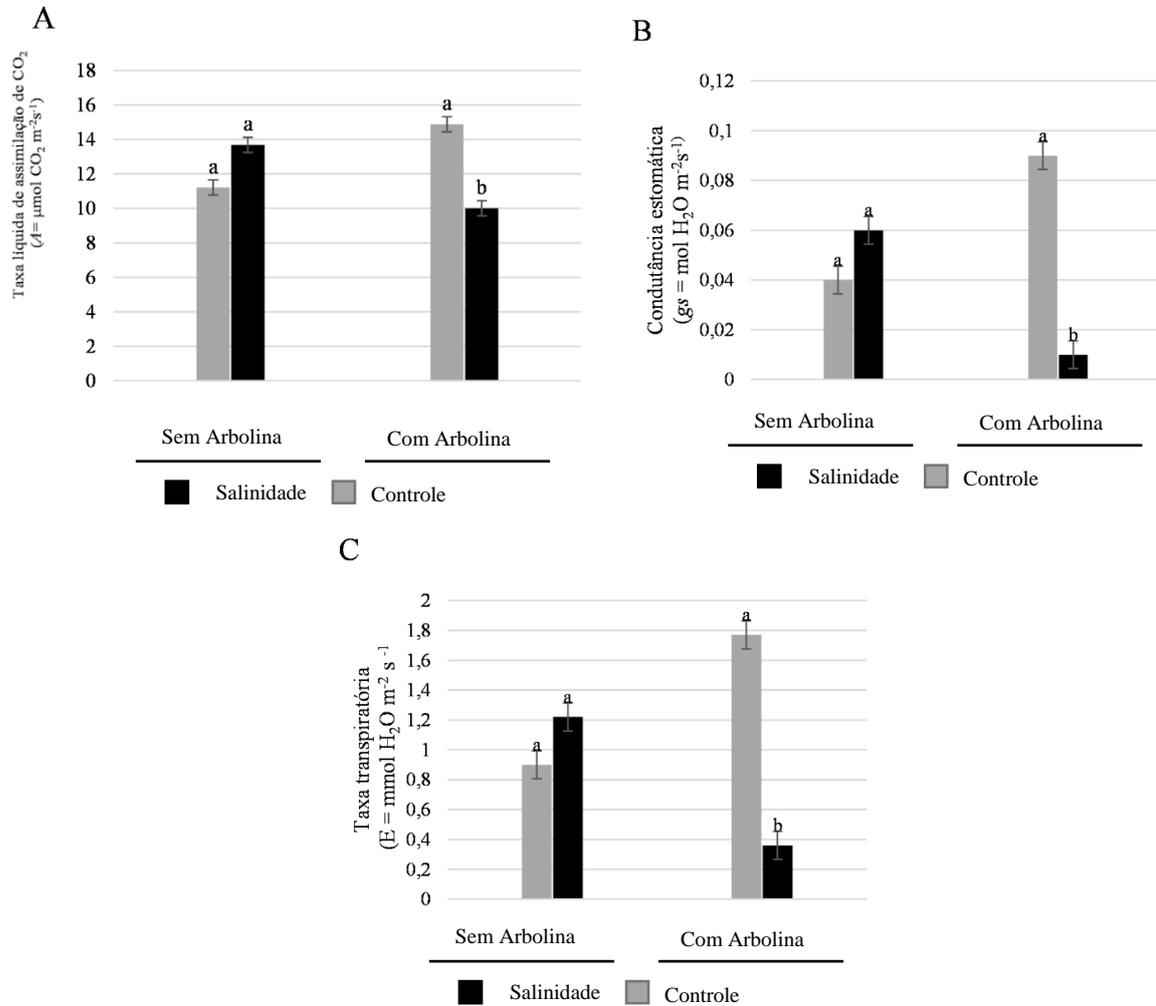
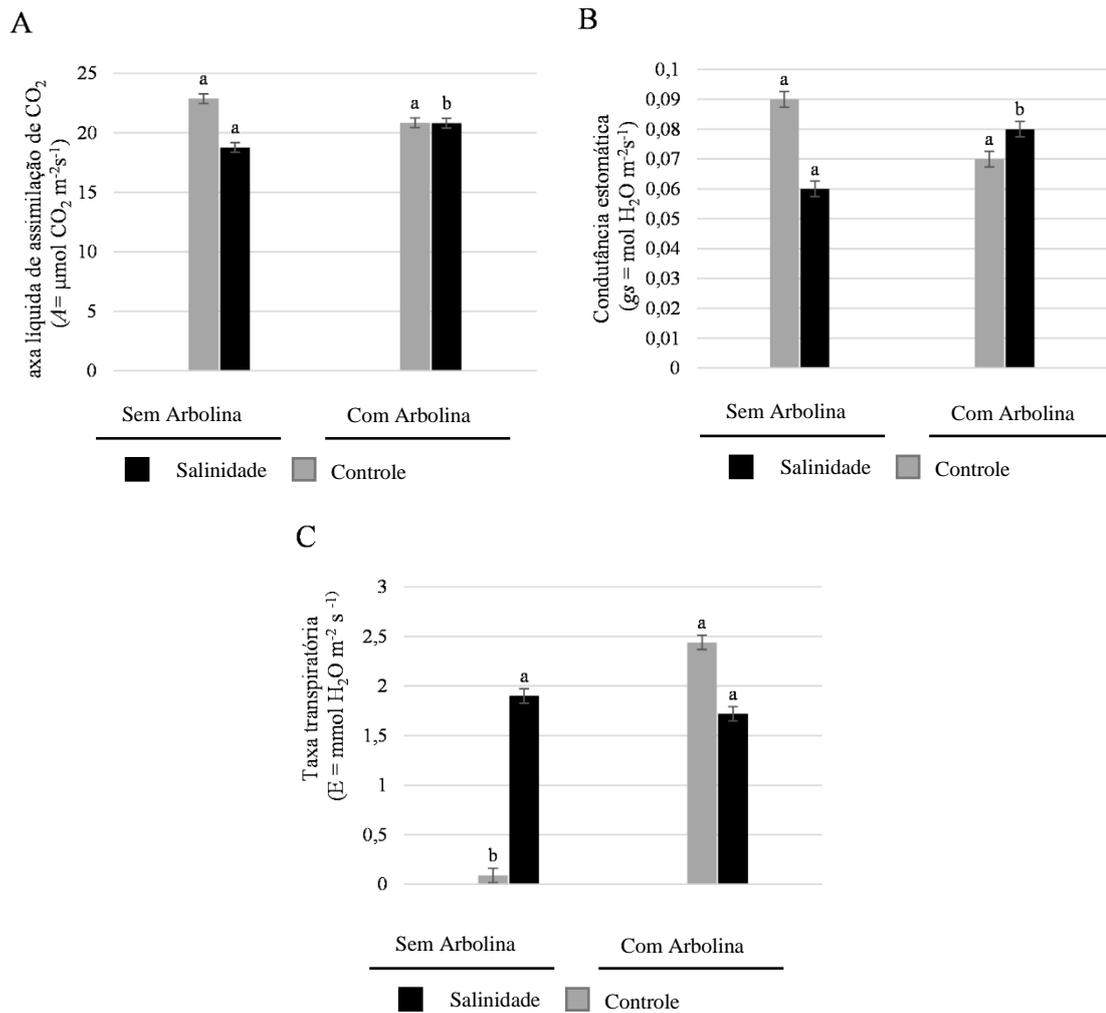


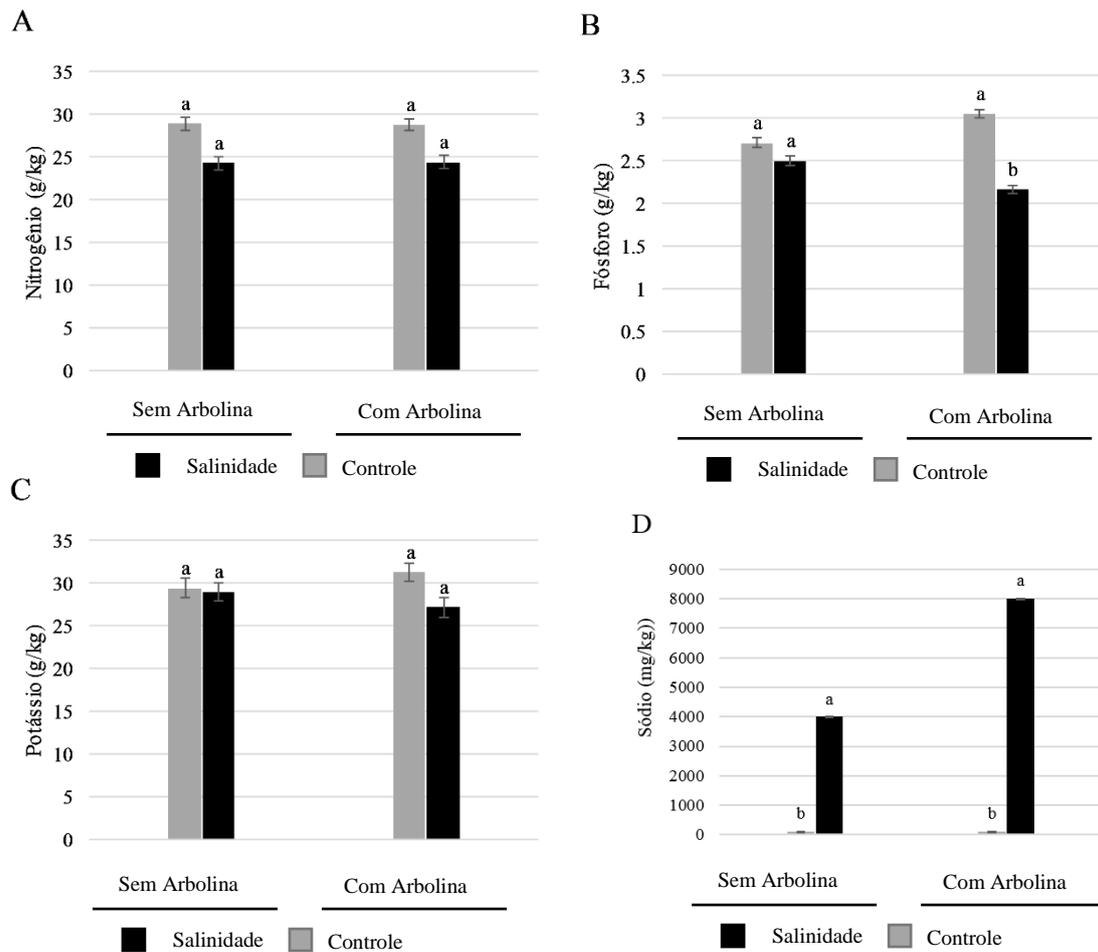
Figura 10 - (A) Fotossíntese (B) Condutância estomática (C) Transpiração da cultura do milho submetidas a aplicação de arbolina e estresse salino colhido aos 50 dias após a semeadura, estágio fenológico V7. Tratamentos com letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre os fatores arbolina e salinidade.



4.5 Análise nutricional

Os nutrientes N, P, K, não foram afetadas pelos tratamentos. Os teores de Na⁺ foram superiores nos tratamentos salinos, não havendo diferenças entre as aplicações com arbolina (Figura 11).

Figura 11. Valores de análise nutricional de Nitrogênio (A); Fósforo (B); Potássio (C) e Sódio (D). Tratamentos com letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre os fatores arbolina e salinidade.



5 DISCUSSÃO

Os resultados de biometria de plantas de milho são comparados positivamente pelos dados obtidos por Rosendahl; Rosendahl (1991), onde os mesmos apontaram que níveis de salinidade do solo pode afetar o aumento do crescimento vegetal.

Os resultados da variável de germinação, comprimento de parte aérea e raiz dessa pesquisa demonstram ser relacionados com resultados obtidos por Farsiani e Ghobadi (2009) para a cultura do milho, caracterizando que o estresse pode contribuir para melhorar as taxas de germinação, vigor e desenvolvimento da plântula Contribuindo nesse mesmo fator, pesquisas realizadas por Fu et al., 1988, apresentou resultados devido ao aumento das atividades de amilases, lipases, contribuindo em taxas de valores de germinação alto, mesmo com o aumento da salinidade. Para Goldsworthy (1994), a germinação é comprometida e são mais sensíveis com relação à salinidade do que em estágios posteriores ao desenvolvimento da cultura.

O estresse salino reduz o potencial osmótico induzido pela salinidade e aos efeitos tóxicos dos íons nas sementes em fase de germinação (FARSIANI; GHOBADI, 2009). Em solos com estresse por excesso de salinidade presente na rizosfera apresenta diversos desequilíbrios nutricionais que pode prejudicar a cultura do milho. Segundo Turan et al., 2010, os íons que causam salinidade no solo interferem diretamente na absorção de outros minerais, como N, P, K, Ca. De forma geral em pesquisas com estresse salino diversos autores destacam essa redução na absorção de macronutrientes e micronutrientes na cultura do milho (GARCIA, et al., 2005).

Kaya et al. (2010), pesquisando salinidade em plantas de milho, obteve em suas pesquisas resultados semelhantes a este trabalho, como matéria seca de plantas, fatores relacionados a produção de grãos e teores de água apresentou interferências na qualidade de milho.

Da mesma forma, Atum et al. (2008), estresse salino reduziu teores de matéria seca total de parte aérea e raízes, teores de clorofila, os mesmos destacaram que o estresse salino reduziu em diversas concentrações de macronutrientes e micronutrientes. Proporções dos teores de K, Nu, Ca, Mg diminuem quando combinados com altos teores de sais presentes no solo.

Em conformidade com os resultados de atividade enzimática de SOD em pesquisas realizadas por Fahad; Bano (2012) com a cultura do milho com aplicações de estresse salino, obtiveram resultados de aumento das atividades de SOD e POD das folhas.

A salinidade é um dos principais problemas que afeta negativamente o estado de fertilidade do solo e inibe o crescimento e desenvolvimento normal das plantas. Para Yildirim et al. (2008), a salinidade por NaCl diminui a concentração de macro e microelementos essenciais para a maiorias de cultivares. Conforme os resultados obtidos, afirmado por Sivritepe et al., (2003) que destacou em suas pesquisas que a salinidade de NaCl elevou os teores de Na em folhas de diferentes culturas.

Os valores maiores de atividade de CAT, aumentaram significativamente em resposta ao tratamento com ES, resultados obtidos por Mallik et al. (2011), descobriram que o cultivo de plantas na presença de diferentes graus de salinidade resultou na síntese de CAT, os mesmos autores destacaram que houve acúmulo significativo de H₂O₂ nas plantas após exposição a altos níveis de NaCl.

Na variável H₂O₂, molécula envolvida na regulação da expressão gênica durante a exposição de plantas cultivadas a estresses abióticos, a arbolina contribuiu para o aumento da

atividade dessa molécula em folhas de milho, houve tolerância ao estresse salino para esta variável.

Neste estudo, é apresentado que a salinidade reduziu o crescimento, desenvolvimento de plântulas de milho, nas variáveis de comprimento de raiz e de parte aérea, massa fresca e seca de parte aérea em comparação com as condições de controle do tratamento com apenas água, Gondim et al., 2012, estudando a cultura do milho submetidas a aclimação ao estresse salino confirmaram os resultados obtidos.

As variáveis de fotossíntese, condutância estomática e transpiração foram comprometidas com o ES, sendo os resultados de taxa transpiratórias o mais afetado, Van Hoorn et al., 2001, destacam em sua pesquisa que a toxicidade do sal para as plantas, leva a baixa capacidade de retenção de água, desequilíbrio na absorção de nutrientes e altas toxicidade de íons para a fotossíntese das plantas.

Yang; Lu (2005), obtiveram resultados em pesquisas com plantas de milho sob estresse salino com aplicações de moléculas com função de osmoproteção nas células vegetais, melhoraram os terrores de água foliar, a fotossíntese líquida e o rendimento de taxas fotossintéticas, semelhantemente aos efeitos dos tratamentos com arbolina desta pesquisa.

Diversos estudos mostraram que a diminuição na taxa de assimilação de CO₂ quando induzidas por níveis de estresse salino se deve ao fechamento estomático (LU et al., 2003), a arbolina promoveu aumentos para estas taxas nas coletas aos 33 e 50 DAS.

As reduções no crescimento das plantas devido ao estresse salino são frequentemente associadas a uma diminuição na atividade fotossintética, como o transporte de elétrons (MORADI; ISMAIL, 2013).

No presente estudo, a atividade de SOD aumentou acentuadamente nos tratamentos com arbolina em ambas as coletas, para esta enzima não houve aumento visível na atividade quando submetidas ao ES. O estresse salino é conhecido por aumentar a atividade SOD como uma resposta de defesa contra o aumento induzido pela salinidade na geração de O₂⁻ em uma tentativa de desintoxicar o O₂⁻ (AZOOZ et al., 2009).

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos e nas condições em que foram realizadas o experimento:

A arbolina não minimizou os danos causados pelo estresse salino;

O uso da arbolina não trouxe ganhos de produtividade em relação ao controle e tampouco nas plantas sob estresse salino.

REFERÊNCIAS

AHMAD, K.; SAQIB, M.; AKHTAR, J.; AHMAD, R. Evaluation and characterization of genetic variation in maize (*Zea mays* L.) for salinity tolerance. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 49, p.521-526, 2012.

AZOOZ, M.M.; ISMAIL, A.M.; ELHAMD, M.F.A. Growth, Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activities as a Selection Criterion for the Salt Tolerance of Maize Cultivars Grown under Salinity Stress. **International Journal of Agriculture e Biology**, v.11, p.21-26, 2009.

CAMARA, T; WILLADINO, L; TORNE, J.; (2000). Efeito do estresse salino e da prolina exógena em calos de milho. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 12(2), 146-155.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Safra Brasileira de Grãos – Milho**. Safra 21/22, março de 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/monitoramento-agricola>.

DAKER, A. **A água na agricultura: Manual de hidráulica agrícola**. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, v.3, ed.5, 1976. 453p.

EPSTEIN, E.; NORLYN, J.D.; RUSH, D.W.; KINGSBURY, R.W.; KELLY, D.B. Saline culture of crops: a genetic approach. **Science**, v.210, p. 399-404, 1980.

FOYER, C.H.; LELANDAIS, M.; KUNERT, K.J. Photooxidative stress in plants, **Physiology Plant**, v.92, p.696-717, 1994.

GARCIA, G.O.; FERREIRA, P.A.; SANTOS, D.S.; OLIVEIRA, F.G.; MIRANDA, G.V. Estresse salino em plantas de milho: I-macronutrientes aniônicos e suas relações com o cloro. **Revista Brasileira de Engenharia Ambiental**, v.9, 2005.

GOLDSWORTHY, M. Cálcio e salinidade. **Appl Biol**, v.4, p. 1-6, 1994.

GOMES, K; FILHO, F; AMORIM, A. Resposta de crescimento e fisiologia do milho submetido a estresse salino com diferentes espaçamentos de cultivo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.15, n.4, 365-370, 2011.

GONDIM, F.A.; GOMES-FILHO, E.; COSTA, J.H.; ALENCAR, N.L.M.; PRISCO, J.T. Catalase plays a key role in salt stress acclimation induced by hydrogen peroxide pretreatment in maize. **Plant Physiology and Biochemistry**, n.56, p. 62-71, 2012.

GUPTA, B.; HUANG, B. Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Characterization. **International Journal of Genomics**, p. 1-18, 2014.

HALPERN, M.; A; BAR-TAL, M.; OFEK, D.; MINZ, T.; MULLER, U. YERMIYAHU. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. **Advances in Agronomy**, v. 129, p. 141-174, 2015.

HAMDIA, M.A.; SHADDAD, M. Salt tolerance of crop plants. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 6, p. 64-90, 2010.

KAUFFMAN; G.L. KAUFFMAN, D.P. KNEIVEL, T.L. WATSCHKE. Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial ryegrass. **Crop Science**, v.47, p. 261-267, 2007.

LACERDA, C.F.; SOUSA, G.C.; SILVA, F. L.B.; GUIMARÃES, F.V.A.; SILVA, G.L.; CAVALCANTE, L.F. Soil salinization and maize and cowpea yield in the crop rotation system using saline waters. **Engenharia Agrícola**, v. 31, n.4, p. 663-675, 2011.

MALLIK, S.; NAYAK, M.; SAHU, BB.; PANIGRAHI, A.K.; SHAW, B.P. Response of antioxidant enzymes to high NaCl concentration in different salt-tolerant plants. **Biol. Plant**. **2011**, 55, 191–195.

MARTINS, A.G.; SEIDEL, E.P.; RAPIM, L.; ROSSET, J.S.; PRIOR, M.; COPPO, J.C. Aplicação de bioestimulante em sementes de milho cultivado em solos de diferentes texturas. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.15, n.4, p.440-445, 2016.

MORADI, F.; ISMAIL, A.M. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. **Annals of Botany**, p. 1-13, 2007.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 651–681, 2008.

OLIVEIRA, F.D.A; MEDEIROS, J.F; CUNHA, R.C; SOUZA, M.W.L; LIMA, L.A. Uso de bioestimulante como agente amenizador do estresse salino na cultura do milho pipoca. **Revista Ciência Agronômica**, 47: 307-315, 2016.

PEREIRA, J. R. Solos salinos e sódicos. Em In: REUNIAO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO, 15., Campinas. 1982. Acidez e calagem no Brasil. Campinas: SBCS, 1983.

RICHARDS, L.A. **Suelos salinos y sodicos: Diagnostico y rehabilitacion**. 6.ed. México: Editorial Limusa, 1974. 172p.

RIOS-GONZALEZ, K.; ERDEI, L.; LIPS, S.H. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. **Plant Science**, v.162, n.6, p.923-930, 2002.

ROSE, M.T.; PATTI, A.F.; LITTLE, A.L.; BROWN, W.R.; JACKSON, T.R.; AVAGNARO, C. A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. **Advances in Agronomy**, v. 124, p. 37-89, 2014.

ROSENDAHL, C.N, ROSENDAHL, S. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.) on the response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to salt stress. **Environ Exp Botn**, v. 31, p.313–318, 1991.

SILVA, R.C.; GRZYBOWSKI, C.R.S.; PANOBIANCO, M. Vigor de sementes de milho: influência no desenvolvimento de plântulas em condições de estresse salino. **Revista Ciência Agrônômica**, v.47, n.3, p.491-499, 2016.

SIVRITEPE, N., ERIS, H.O. The effects of NaCl priming on salt tolerance in melon seedlings grown under saline conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 97, p.229-237, 2003.

TAIZ, L; ZEIGER, E; MOLLER, IM; MURPHY, A. 2017. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre, BR: Artmed. 888p.

TURAN M.A.; ELKARIM A.H.A.; TABAN N.; TABAN S. Effect of salt stress on growth and ion distribution and accumulation in shoot and root of maize plant. **African Journal of Agricultural Research**, v. 5 p.584–588, 2010.

VIEIRA, P.A.; CONTINI, E.; HENZ, G.P.; NOGUEIRA, V.G.C. **Geopolítica do Alimento – O Brasil como fonte estratégica de alimentos para a humanidade**. Embrapa, Brasília-DF, 2019, 317p.

VILLA NOVA, N. A.; PEDRO JÚNIOR, M. J.; PEREIRA, A. R.; OMETTO, J. C. **Estimativa de graus-dia acumulados acima de qualquer temperatura base, em função das temperaturas máxima e mínima**. Caderno de Ciências da Terra, São Paulo, 1972. 8 p.

YANG, X.; LU, C. Photosynthesis is improved by exogenous glycinebetaine in salt-stressed maize plants. **Physologia Plantarum**, v. 124, ed.3, p. 343-352, 2005.

APÊNDICES

Apêndices A. Plantas de milho aos 12 dias após a semeadura.



Apêndice B. Plantas de milho na primeira coleta – 33 dias após a semeadura.



Apêndice C. Plantas de milho na primeira coleta – 50 dias após a semeadura.



Apêndice D. Tratamento – Estresse salino.



Apêndice E. Plantas de milho – Início do Pendoamento.



Apêndice F. Plantas aos 145 dias após a semeadura.

