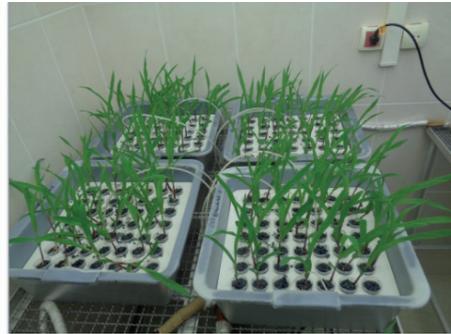


Avaliação de Plântulas de Milho sob Efeito de Bioestimulantes em Solução Nutritiva



ISSN 1679-0154
Outubro 2016

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 138

Avaliação de Plântulas de Milho sob Efeito de Bioestimulantes em Solução Nutritiva

Natanael Tavares de Oliveira
Sylvia Morais de Sousa

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2016

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45

Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3027-1100

Fax: (31) 3027-1188

www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau

Membros: Antonio Claudio da Silva Barros, Cynthia Maria Borges

Damasceno, Maria Lúcia Ferreira Simeone, Monica Matoso

Campanha, Roberto dos Santos Trindade, Rosângela Lacerda de

Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa

Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto(s) da capa: Foto da direita e esquerda (Natanael Tavares de

Oliveira) e Foto do meio (Sylvia Morais de Sousa)

1ª edição

Versão Eletrônica (2016)

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Milho e Sorgo

Oliveira, Natanael Tavares de.

Avaliação de plântulas de milho sob efeito de bioestimulantes em solução nutritiva / Natanael Tavares de Oliveira, Sylvia Morais de Sousa – Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2016

55 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 138).

1. Raiz. 2. Solução nutritiva. 3. Estimulante de crescimento vegetal. I. Sousa, Sylvia Morais de. II. Título. III. Série.

CDD 633.15 (21. ed.)

© Embrapa 2016

Sumário

| | |
|-------------------------------------|----|
| Resumo | 4 |
| Abstract | 6 |
| Introdução | 7 |
| Material e Métodos | 11 |
| Resultados e Discussão | 18 |
| Conclusões | 47 |
| Agradecimentos | 48 |
| Referências | 48 |

Avaliação de Plântulas de Milho sob Efeito de Bioestimulantes em Solução Nutritiva

Natanael Tavares de Oliveira¹

Sylvia Moraes de Sousa²

Resumo

Os bioestimulantes são amplamente utilizados na agricultura moderna e são compostos por substâncias e/ou microrganismos que podem aumentar o desenvolvimento vegetal. Eles podem ser aplicados diretamente nas plantas ou na rizosfera, a fim de estimular os processos naturais que melhoram a absorção e utilização de nutrientes, a tolerância a estresses abióticos e a produção. Apesar da crescente utilização dos bioestimulantes na agricultura, há pouca informação sobre o seu mecanismo de ação. Há vários produtos no mercado e muitos são extraídos de substâncias húmicas (SH), que afetam a fisiologia das plantas, principalmente o desenvolvimento radicular. Estudos com aminoácidos individuais sugerem que estes podem regular a sinalização da aquisição de nutrientes.

¹Mestrando em Biotecnologia e Gestão da Inovação, Centro Universitário de Sete Lagoas - UNIFEMM, Sete Lagoas, MG, natanaeltavaress@yahoo.com.br

²Bióloga, DSc., Pesquisadora em Biologia Molecular da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, sylvia.sousa@embrapa.br

O objetivo desse trabalho foi estabelecer um protocolo de avaliação do sistema radicular de plântulas de milho sob efeito de bioestimulantes à base de SH e aminoácidos. Inicialmente foram avaliados aspectos da morfologia radicular e peso seco de dois genótipos de milho crescidos em solução nutritiva com os bioestimulantes A (à base de SH), B e C (à base de aminoácidos), em um sistema de pasta de papel. Esse ensaio indicou que o genótipo 1 (L521236/CMSM036) foi o mais responsivo aos tratamentos e que o sistema de pasta não era adequado para avaliação dos bioestimulantes. Nos experimentos posteriores foi utilizado o sistema de floating com diversas concentrações dos bioestimulantes e tempos de tratamento. Além disso, foram avaliadas as plântulas de milho sob um período de aclimação. Após diferentes testes, ficou determinado que a metodologia mais adequada para avaliação dos bioestimulantes foi realizar a aclimação das plantas durante sete dias em solução de Hoagland meia força (pH 5,65) pelo sistema floating, com adição de 54,4, 5 e 5 $\mu\text{L L}^{-1}$ de bioestimulantes A, B e C, respectivamente, deixando as plântulas no sistema por mais sete dias. Nessa condição, foi possível detectar aumentos na área de superfície total da raiz, na área de superfície de raízes com diâmetro entre 1-2 mm e 2-4,5 mm e no peso seco total. Esse método permitirá o desenvolvimento de experimentos moleculares e fisiológicos que levarão a uma melhor compreensão da ação dos bioestimulantes.

Palavras-chave: Promotores de crescimento, raiz, solução nutritiva.

Maize Seedling Assessment under the Effect of Biostimulants in Nutrient Solution

Natanael Tavares de Oliveira¹

Sylvia Morais de Sousa²

Abstract

The biostimulants are widely used in modern agriculture and are composed of substances and/or microorganisms that can increase plant development. They can be applied directly in the plants or in the rhizosphere, aiming to stimulate natural processes that improve the absorption and utilization of nutrients, tolerance to abiotic stresses and yield. Despite the increase of biostimulants used in agriculture, there is not much information about their action mechanisms. There are several products in the market and many of them are extracted from humic substances (HS), which affect plant physiology, especially root development. Studies with individual amino acids suggest that they play a role in the regulation of nutrient acquisition signaling through the roots. The aim of this study was to establish a root morphology evaluation protocol for maize seedlings under HS and amino acid biostimulants. Initially, we evaluated root morphology aspects and dry weight of two maize commercial genotypes grown in nutrient solution with biostimulant A (HS), B and C (amino acids) in a paper

pouch system. This test indicated that the genotype 1 (L521236/CMSM036) was more responsive to the treatments and that the paper pouch system was not suitable for bio-stimulants assessment. In later experiments, we used the floating system with various concentrations of biostimulants and treatment times. In addition, we evaluated maize seedlings with an acclimatization period. After different tests, we determined that the most suitable methodology for biostimulants evaluation was an acclimatization of maize plantlets for seven days with half strength Hoagland's nutrient solution (pH 5.65), in a floating system, with the addition of 54.4, 5, 5 mL L⁻¹ of biostimulants A, B and C, respectively, leaving the plantlets in the system for more seven days. In this condition, there was an increase in root total surface area, root surface area of roots with diameter between 1-2 mm and 2-4.5 mm and total dry weight. This method will allow the development of molecular and physiological experiments that will shed a light on biostimulants action mechanisms.

Keywords: Growth promoters, root, nutrient solution.

Introdução

O milho é uma das espécies cultivadas há mais tempo em todo o mundo e no cenário mundial desempenha um papel de grande importância econômica. No Brasil, a produção de milho na safra 2014/2015 foi 84,7 milhões de toneladas cultivadas numa área de 15,69 milhões de hectares (CONAB, 2016). Para o cultivo do milho, principalmente nas médias e grandes propriedades, são empregadas tecnologias de ponta, incluindo o uso crescente de sementes melhoradas associadas à

aplicação, via semente, de fungicidas, herbicidas e promotores de crescimento (Santos et al., 2013).

Os bioestimulantes podem ser definidos como produtos promotores de crescimento vegetal não nutritivos, sendo seu efeito baseado no estímulo à absorção de nutrientes e quelatos orgânicos e na promoção do equilíbrio hormonal da planta (ELLIOTT; PREVATTE, 1996). Os bioestimulantes podem apresentar duas ou mais substâncias promotoras de crescimento vegetal de natureza bioquímica diversa, como aminoácidos, nutrientes, vitaminas, substâncias húmicas, extrato de algas e inóculos microbianos (LIMBERGER et al., 2012; SANTOS et al., 2013; TANAKA et al., 2008; CALVO et al., 2014). Normalmente são aplicados em pequenas quantidades via foliar, solo ou semente e possuem ações similares a grupos de hormônios vegetais. Esses fitormônios agem também na degradação das reservas das sementes e otimizam o potencial genético da planta (TECCHIO et al., 2006; JANNIN et al., 2012; KLAHOLD et al., 2006; FERREIRA et al., 2007). Além disso, os bioestimulantes orgânicos têm potencial para reduzir o uso de fertilizantes convencionais sem prejuízo ao crescimento da planta (RUSSO; BERLYN, 1990).

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

ZANDONADI et al., 2014). O interesse em produtos à base de SH nas culturas como as de milho e soja vem crescendo por causa dos resultados positivos obtidos nos últimos anos (SILVA et al., 2011). As principais fontes de extração de SH para a produção de fertilizantes orgânicos e organominerais são de origem geológica rica em carbono humificado, tais como turfas, rochas, lignita, carvão, esterco e resíduos orgânicos (REUSA et al., 1994).

Aminoácidos como proteínas hidrolisadas de origem vegetal são utilizadas para compor produtos bioestimulantes que podem ser usados em solo ou solução nutritiva. Os aminoácidos têm sido empregados na agricultura há décadas nas mais diversas culturas. Empresas que fabricam produtos à base de aminoácidos vêm aumentando a cada dia, e colocando no mercado uma série considerável desses produtos (CASTRO et al., 2008). Um exemplo é o ácido L-glutâmico que é um aminoácido obtido a partir da fermentação do melaço da cana-de-açúcar pela bactéria *Corynebacterium glutamicum* (LIMBERGER et al., 2012).

Há benefícios na utilização dos bioestimulantes em vegetais, porém ainda existem muitas controvérsias em relação à maneira de se utilizar essas substâncias, pois estudos mostram que sua aplicação de forma indiscriminada não demonstra eficácia, sendo importante a realização de experimentos para definir a forma correta e as condições de aplicação para cada cultura (CASTRO et al., 2008; LAMBAIS, 2011; OLIVEIRA et al., 2013). Na literatura encontram-se diferentes metodologias para aplicação dos bioestimulantes, sendo que alguns trabalhos relatam que o emprego de bioestimulantes não é eficaz. Por exemplo, Albregts et al. (1988) testaram

ácido húmico em plantação de morango cultivado em solo, porém não encontraram aumento significativo na produção de frutos. Heckman (1995), ao testar bioestimulantes comerciais em repolhos crescidos em estufas, combinado com fósforo, não obteve resultados satisfatórios com os tratamentos estabelecidos. Já Keltling et al. (1997) aplicaram um bioestimulante à base de substâncias húmicas em plantas de avelã turco por imersão das raízes e observaram uma redução do diâmetro do caule, folhas e massa seca em relação ao controle. Além disso, é necessário avançar no conhecimento sobre os bioestimulantes, uma vez que é preciso estabelecer parâmetros, procedimentos de aplicação em campo, definição dos produtos mais adequados para cada cultura, evitando assim uma recomendação generalizada, como tem sido feito por alguns fabricantes. Existem muitos obstáculos para as empresas produtoras de estimulante vegetal no Brasil em relação ao registro seus produtos, pois ainda não existe uma legislação clara para essa classe de produtos. Atualmente, os bioestimulantes são registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Mapa, na classe Regulador de Crescimento Vegetal na legislação de Agrotóxicos (MORAES, 2015; SILVA et al., 2012). As empresas da União Europeia e dos Estados Unidos enfrentam o mesmo problema do Brasil, pois a carência global sobre o conhecimento dos mecanismos de ação de produtos biorreguladores e seus efeitos no metabolismo da planta dificulta a criação de decretos ou leis específicas para essa classe de produtos (COLMAN et al., 2013; MORAES, 2015; DU JARDIN, 2015).

Diante da gama de informações, recomendações e provas empíricas quanto ao real efeito de bioestimulantes, esse trabalho buscou estabelecer um protocolo de avaliação

dos efeitos de bioestimulantes à base de ácidos húmicos e aminoácidos no crescimento radicular de plântulas de milho.

Materiais e Métodos

Material Genético e Bioestimulantes

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

Foram utilizados três produtos bioestimulantes, sendo dois comerciais e um em fase experimental. O primeiro produto comercial, Black Gold® (BIOESTIMULANTE A), é produzido pela empresa Fortgreen, à base de substância húmica (SH), obtido a partir de leonardita e composto por 0,5% de N, 16,7% de ácidos húmicos, 14,0% de carbono orgânico total, 18,0% de extrato húmico total, 1,3% de ácidos fúlvicos, com pH 4,0 e densidade 1,1 g cm⁻³. O segundo produto comercial é o Amino Plus® (BIOESTIMULANTE B) produzido pela empresa Ajinomoto Fertilizantes, constituído à base de aminoácidos obtidos a partir de substâncias organominerais e possui em sua composição 11,0% de N, 1,0% de K₂O, e 6,0% de carbono orgânico total, com densidade de 1,25 g cm⁻³. Já o terceiro produto, ainda em fase experimental, rotulado para este trabalho como BIOESTIMULANTE C é constituído à base de aminoácido obtido a partir de substâncias organominerais, porém, as

concentrações da composição química do produto não foram disponibilizadas pelo fabricante.

Metodologia Utilizando Solução Nutritiva em Pastas— Ensaio 1

As concentrações do bioestimulante A utilizadas no ensaio 1 foram determinadas pela recomendação do fabricante e na observação dos resultados obtidos por Pinheiro (2009); Adani et al. (1998) e Siewerdt et al. (1999), sendo utilizadas doses equivalentes à concentração de ácido húmico de 2 a 80 mg L⁻¹. As concentrações dos bioestimulantes B e C foram calculadas conforme a recomendação do fabricante do bioestimulante B e Lambais (2011). Para os bioestimulantes B e C, não foi possível calcular substâncias fracionadas como foi calculado para o bioestimulante A. Os bioestimulantes foram colocados diretamente na solução nutritiva e homogeneizados manualmente.

As sementes de milho dos genótipos 1 e 2 foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 0,5% por cinco minutos, lavadas com água deionizada e germinadas em papel de germinação em câmara de crescimento. Após a germinação das sementes por quatro dias, três plântulas uniformes foram selecionadas para cada uma das três repetições e transplantadas para um sistema composto de pastas de arquivo forradas com papel de germinação (DE SOUSA et al., 2012) e colocadas em baldes com cinco litros de solução nutritiva de Magnavaca meia força (pH 5,65) (MAGNAVACA et al., 1987) com e sem bioestimulante (FIGURA 1). A solução foi trocada a cada três dias e estes sistemas foram mantidos em câmara de crescimento com

temperatura diurna média de 27 ± 3 °C, noturna de 20 ± 3 °C e fotoperíodo de 12 horas, sob aeração contínua.

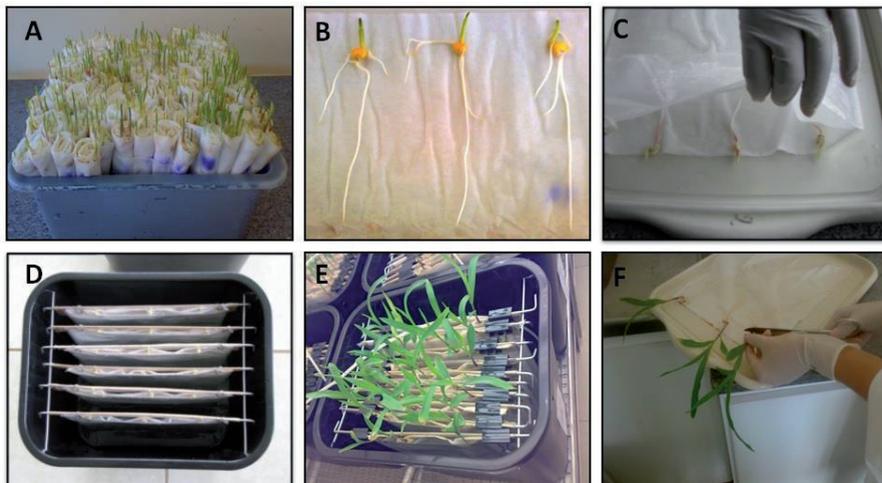


Figura 1. Esquema de crescimento de plantas em pasta.

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

No ensaio 1 foram testadas cinco doses dos bioestimulantes A, B e C e mais o controle (sem bioestimulante) (TABELA 1), e quatro tempos de coleta (3, 6, 10 e 13 dias após o início do tratamento). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições com três plantas por pasta.

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

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

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

As sementes de milho do genótipo 1 (L521236/CMSM036) foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 0,5% por cinco minutos, lavadas e embebidas durante quatro horas em água deionizada e germinadas em papel de germinação em câmara de crescimento. Após a germinação das sementes por quatro dias, plântulas uniformes foram selecionadas e transplantadas para um sistema composto de bandejas plásticas e opacas (FIGURA 2) contendo oito litros de solução nutritiva Hoagland meia força pH 5,65 (LIU et al., 1998).

A raiz de cada plântula foi fixada a orifícios circulares de copos de polietileno e encaixadas em placas plásticas apoiadas sobre as bandejas com solução nutritiva (FIGURA. 2) e doses crescentes dos bioestimulantes A, B, C e controle (sem bioestimulante). A solução nutritiva foi trocada a cada três dias e as plantas, mantidas em câmara de crescimento com temperatura diurna média de 27 ± 3 °C, noturna de 20 ± 3 °C e

fotoperíodo de 12 horas, sob aeração contínua. Os tempos de tratamentos e doses estão descritos a seguir para cada ensaio.



Figura 2. Sistema de crescimento floating de plântulas de milho em solução nutritiva. A) Seleção de plântulas uniformes após quatro dias de germinação; B) Bandeja montada com plântulas de milho; C) Plântulas crescendo em solução livre sob condições controladas e aeração; e D) Plântulas de milho em copos de polietileno após término do experimento.

No ensaio 2, foram testadas três doses dos Bioestimulantes A, B e C e mais o controle (sem bioestimulante) (TABELA 2) e foi utilizado o genótipo 1 crescido em solução de Hoagland

meia força no sistema floating. Foram realizadas três coletas com 3, 7 e 10 dias após o início do tratamento. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições com cinco plantas cada.

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

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

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

No ensaio 4, foi testada uma dose dos Bioestimulantes A, B e C mais o controle (sem bioestimulante) (TABELA 4) e foi utilizado o genótipo 1 crescido em solução de Hoagland meia força no sistema floating. A dose foi determinada com base nos resultados do ensaio 3. As plantas ficaram em solução nutritiva por sete dias para aclimação e a coleta foi feita três e sete dias após o início do tratamento. O delineamento experimental

utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições com cinco plantas cada.

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

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

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

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

Análise de Imagens e Peso Seco Total por Planta

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

Além das características do sistema radicular, foi determinado o peso seco da parte aérea e raiz. A raiz e a parte aérea foram colocadas separadamente em sacos de papel e secos em estufa com circulação forçada a 65 °C e pesados em balança de precisão após a obtenção do peso constante. O peso seco total (PST) foi calculado somando-se o peso seco da parte aérea e a da raiz. Além disso, o peso seco dentro de cada repetição foi dividido pelo número de plantas dentro da repetição, obtendo-se o peso seco total por planta.

Análise de Dados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo programa computacional SISVAR versão 5.4 (FERREIRA, 2011) e as médias foram comparadas pelo teste LSD ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

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

Na análise de variância para o teste entre genótipos (G) utilizando os bioestimulantes A, B e C, foram observadas diferenças significativas para todas as características selecionadas para avaliação (TABELAS 5, 6 e 7). O comprimento radicular total do genótipo 1 foi maior do que o do genótipo 2 em todas as condições testadas, indicando que os genótipos 1 e 2 são contrastantes quanto à morfologia do sistema radicular (FIGURAS 3, 4 e 5). Para dose (D) de bioestimulante foram observadas diferenças significativas para área de superfície

entre 1,0 e 2,0 mm para o bioestimulante A, para comprimento total, diâmetro médio e área de superfície entre 0 e 1,0 mm para bioestimulante B e para todas as características com exceção de peso seco total para o bioestimulante C (TABELAS 5, 6 e 7). Para os bioestimulantes A e C, ocorreu inibição do crescimento radicular à medida que se aumentou a dose do bioestimulante, havendo redução do comprimento radicular total, enquanto para o bioestimulante B não houve diferença significativa entre os tratamentos (FIGURAS 3, 4 e 5). Para todos os bioestimulantes a diferença foi significativa para todas as características quando considerada a coleta (C), uma vez que há crescimento radicular com o tempo de desenvolvimento das plantas (TABELAS 5, 6 e 7). Para a interação GxD, a análise de variância foi significativa para as características comprimento total, área de superfície total, diâmetro médio e área de superfície entre 1,0 e 2,0 mm quando analisado o bioestimulante A. Para o bioestimulante B, houve diferença para comprimento total, diâmetro médio e área de superfície entre 0 e 1,0 mm, enquanto para o bioestimulante C, houve diferença significativa para todas as características, com exceção de área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total. Para a interação GxC, todas as características tiveram diferenças significativas, com exceção de peso seco total considerando todos os bioestimulantes e área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm para o bioestimulante C. Os resultados das interações mostraram que há diferença entre os genótipos e que os genótipos se desenvolveram independentemente dos tratamentos. Nas interações entre dose e coleta (DxC), não houve diferença significativa para a maioria das características, exceto em área de superfície entre 0 e 1,0 mm, área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total para o bioestimulante A e área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e

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

Os resultados nesse ensaio, não apresentaram uma resposta clara aos produtos testados, embora tenha ocorrido, especialmente para os bioestimulantes A e C, inibição do crescimento radicular com o aumento da dose. O contraste da morfologia radicular foi consistente entre os genótipos independentemente dos tratamentos e tempo de análise. Apenas sob efeito do bioestimulante B no início do tratamento houve redução da diferença entre os genótipos, indicando que o genótipo 2 é menos responsivo a esse tipo de bioestimulante em altas doses do que o genótipo 1. As plantas podem não responder (KELTING et al., 1997) ou responder negativamente

aos bioestimulantes, levando à inibição no crescimento vegetativo (ELLIOTT; PREVATTE, 1996). Respostas negativas aos bioestimulantes são influenciadas por vários fatores, (1) a espécie, o órgão e a idade da planta; (2) a dose recomendada para cada espécie ou cultivar; (3) a fonte de material orgânico, de onde foi extraída; e (4) as características físico-químicas específicas das substâncias húmicas a serem utilizadas (ZANDONADI et al., 2014). Além disso, a metodologia pode não ter sido adequada, pois no sistema de pastas o bioestimulante pode ter ficado retido no papel de germinação. Nessa metodologia, os nutrientes alcançam as raízes por capilaridade com alta precisão para testes com íons dissociados, porém, para esses experimentos, foram empregados os bioestimulantes, que são de origem orgânica, que podem ter formado quelatos orgânicos com os íons da solução, dificultado dessa forma veiculação através do papel (LAMBAIS, 2011; DOURADO NETO et al., 2014).

Tabela 5. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco de dois genótipos de milho avaliados sob efeito de doses crescentes do bioestimulante A em diferentes tempos de tratamento.

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

ns não significativo, * significativo a 5% e ** significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste F. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm²), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm²) e peso seco total (PST) (g).

Tabela 6. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco de dois genótipos de milho avaliados sob efeito de doses crescentes do bioestimulante B em diferentes tempos de tratamento.

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

ns não significativo, * significativo a 5% e ** significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste F. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm²), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm²) e peso seco total (PST) (g).

Tabela 7. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco de dois genótipos de milho avaliados sob efeito de doses crescentes do bioestimulante C em diferentes tempos de tratamento.

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

ns não significativo, * significativo a 5% e ** significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste F. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm²), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm²) e peso seco total (PST) (g).

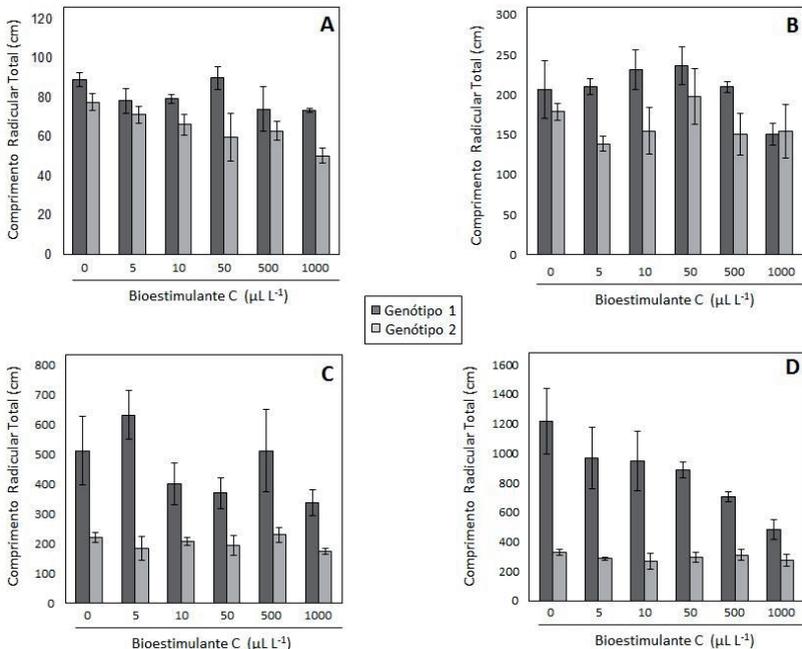


Figura 3. Comprimento radicular total (cm) de dois genótipos de milho tratados com cinco doses de bioestimulante A e um controle negativo 3 (A), 6 (B), 10 (C) e 13 (D) dias após o início do tratamento. As barras de erro representam o desvio padrão de três repetições biológicas com três plântulas cada.

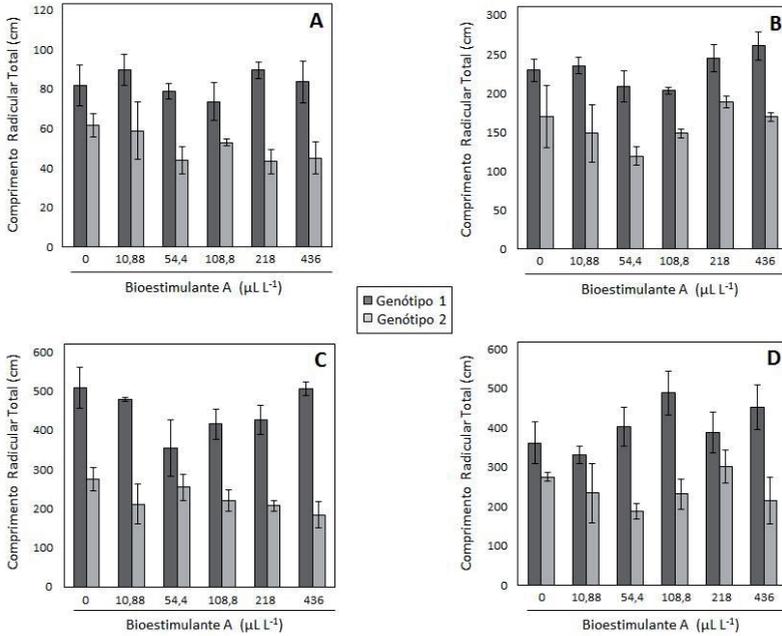


Figura 4. Comprimento radicular total (cm) de dois genótipos de milho tratados com cinco doses de bioestimulante B e um controle negativo 3 (A), 6 (B), 10 (C) e 13 (D) dias após o início do tratamento. As barras de erro representam o desvio padrão de três repetições biológicas com três plântulas cada.

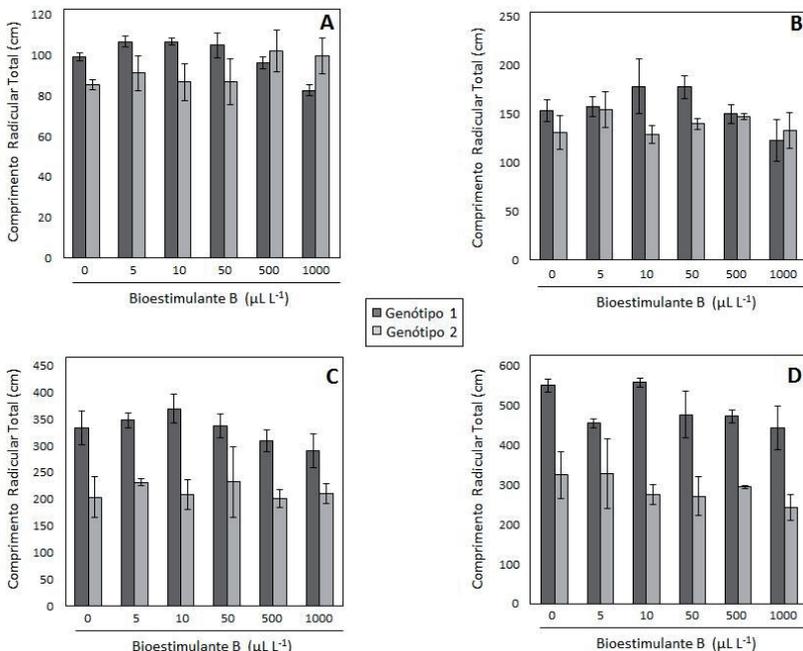


Figura 5. Comprimento radicular total (cm) de dois genótipos de milho tratados com cinco doses de bioestimulante C e um controle negativo 3 (A), 6 (B), 10 (C) e 13 (D) dias após o início do tratamento. As barras de erro representam o desvio padrão de três repetições biológicas com três plântulas cada.

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

- Plântulas de milho do genótipo 1 (L521236/CMSM036) em solução nutritiva de Hoagland no sistema solução livre (sistema *floating*) - Ensaio 2

A análise de variância do experimento com bioestimulante A (TABELA 8) mostrou que considerando dose (D) houve diferença significativa para todas as características, exceto área de superfície entre 1,0 e 2,0 mm e peso seco total, enquanto para o bioestimulante B e C não houve diferença apenas para área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total (TABELAS 9 e 10). Considerando coleta (C), a diferença foi significativa para todas as características sob tratamento dos bioestimulantes A, B e C (TABELAS 8, 9 e 10). A interação DxC foi significativa para a maioria das características, com exceção de diâmetro médio, área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm, peso seco total para o bioestimulante A (TABELA 8), área de superfície entre 1,0 e 2,0 mm, área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total para o bioestimulante B (TABELA 9) e área de superfície total, área de superfície entre 0 e 1,0 mm, área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total para o bioestimulante C (TABELA 10). Enquanto os bioestimulantes A e C inibiram o comprimento radicular total (FIGURAS 6 e 8), o bioestimulante B aumentou o comprimento radicular após 10 dias de tratamento com as doses 5 e 10 $\mu\text{L L}^{-1}$ (FIGURA 7). O coeficiente de variação foi baixo para todas as características analisadas nos experimentos com os bioestimulantes A, B e C (TABELAS 8, 9 e 10), indicando confiabilidade dos dados.

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

Tabela 8. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante A em diferentes tempos de tratamento.

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

ns não significativo, * significativo a 5% e ** significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste F. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm²), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm²) e peso seco total (PST) (g).

Tabela 9. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante B em diferentes tempos de tratamento.

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

ns não significativo, * significativo a 5% e ** significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste F. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm²), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm²) e peso seco total (PST) (g).

Tabela 10. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante C em diferentes tempos de tratamento.

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

ns não significativo, * significativo a 5% e ** significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste F. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm²), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm²) e peso seco total (PST) (g).

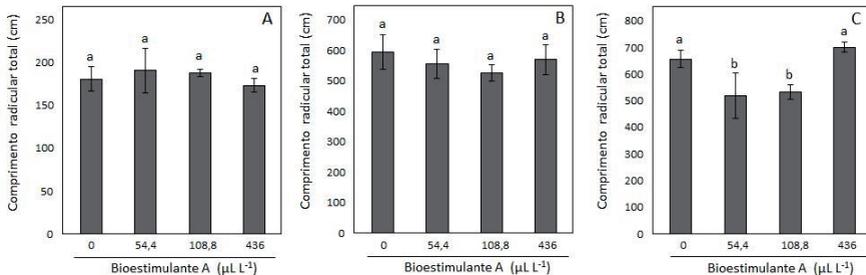


Figura 6. Comprimento radicular total (cm) de plântulas de milho (L521236/CMSM036) tratadas com três doses de bioestimulante A e um controle negativo 3 (A), 7 (B) e 10 (C) após o início do tratamento. As barras de erro representam o desvio padrão. As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste LSD ($p < 0,05$).

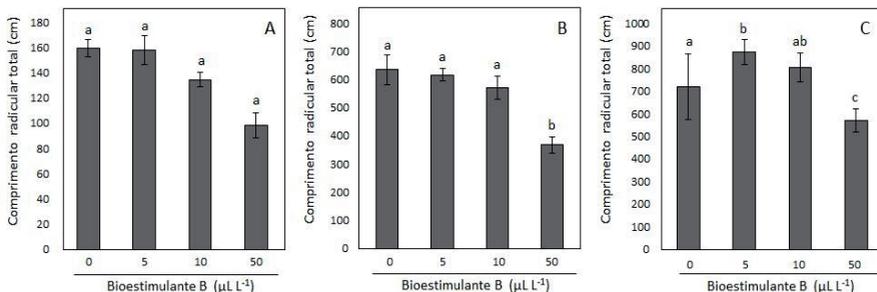


Figura 7. Comprimento radicular total (cm) de plântulas de milho (L521236/CMSM036) tratadas com três doses de bioestimulante B e um controle negativo 3 (A), 7 (B) e 10 (C) após o início do tratamento. As barras de erro representam o desvio padrão. As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste LSD ($p < 0,05$).

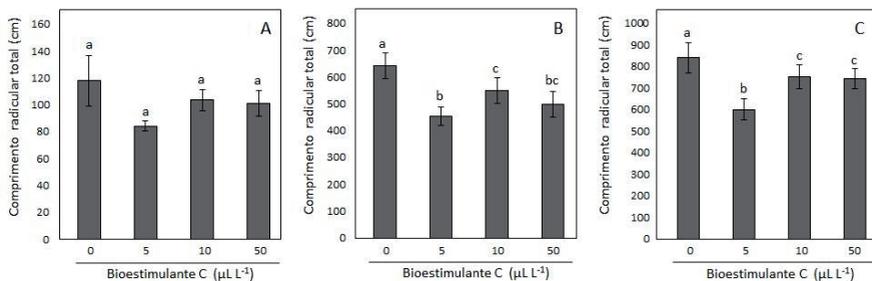


Figura 8. Comprimento radicular total (cm) de plântulas de milho (L521236/CM5M036) tratadas com três doses de bioestimulante C e um controle negativo 3 (A), 7 (B) e 10 (C) após o início do tratamento. As barras de erro representam o desvio padrão. As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste LSD ($p < 0,05$).

- Plântulas de milho do genótipo 1 (L521236/CM5M036) aclimatadas em solução nutritiva de Hoagland por sete dias e sob efeito dos bioestimulantes por três dias - Ensaio 3

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

Para determinar o período de início dos tratamentos nesse ensaio, foram considerados os trabalhos realizados por Ertani et al. (2009) e Schiavon et al. (2010), que ao testarem fitormônios em planta de milho não os adicionaram no meio nutritivo logo após o transplante para a solução livre. As plântulas de milho passaram por um período de aclimação ao meio nutritivo antes do tratamento, pois longos períodos de exposição da raiz

a bioestimulante podem ocasionar inibição do desenvolvimento vegetal. Ertani et al. (2009), Schiavon et al. (2010) e Quaggiotti et al. (2004) obtiveram efeito positivo ao avaliar o desenvolvimento de planta de milho submetido a tratamento com fitormônio com 14 dias de crescimento sendo o início do tratamento com 12 dias. Com base nessas informações, no ensaio 3 os bioestimulantes A, B e C foram colocados após sete dias de aclimatação em solução nutritiva Hoagland meia força (LIU et al., 1998) pH 5,65, e doses foram baseados na resposta positiva no ensaio 2 com 10 dias. Nesse ensaio, ao contrário do que havia sido observado nos ensaios 1 e 2, não foi verificada inibição, porém não houve resposta positiva.

Não houve diferença significativa para nenhuma das características avaliadas (TABELAS 11, 12 e 13), porém foi observada uma tendência no aumento do comprimento total, área de superfície total, área de superfície entre 1,0 e 2,0 mm e peso seco total (FIGURAS 9, 10, 11).

Tabela 11. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante A.

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

ns não significativo. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm²), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm²) e peso seco total (PST) (g).

Tabela 12. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante B.

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

ns não significativo. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm²), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm²) e peso seco total (PST) (g).

Tabela 13. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito de doses crescentes do bioestimulante C.

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

ns não significativo. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm²), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm²) e peso seco total (PST) (g).

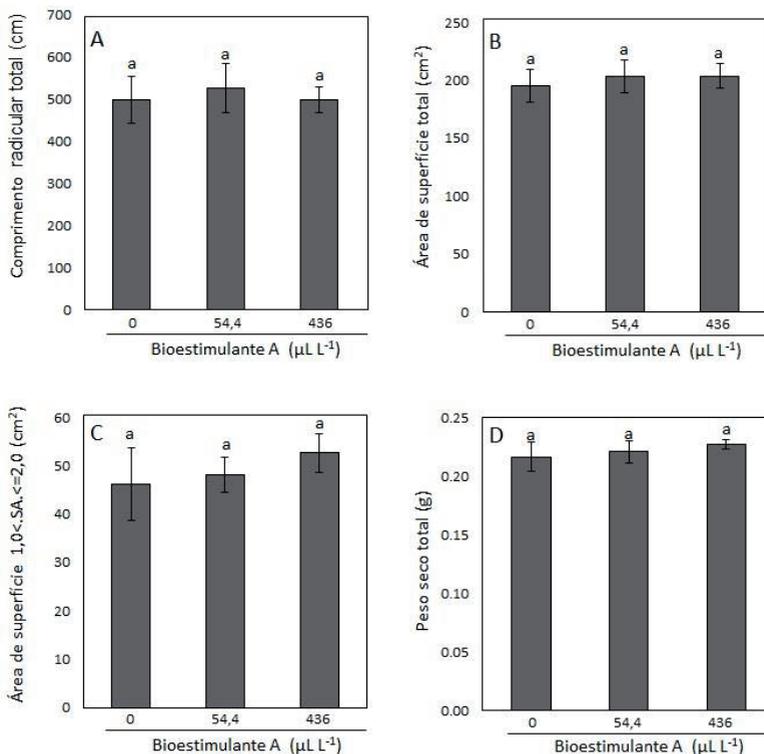


Figura 9. Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho (L521236/CMSM036) após três dias de tratamento com duas doses do bioestimulante A e controle negativo durante três dias de tratamento. (A) Comprimento radicular total (cm), (B) área de superfície total (cm²), (C) área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm (cm²), (D) peso seco total (g). As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste (LSD) ($p < 0,05$).

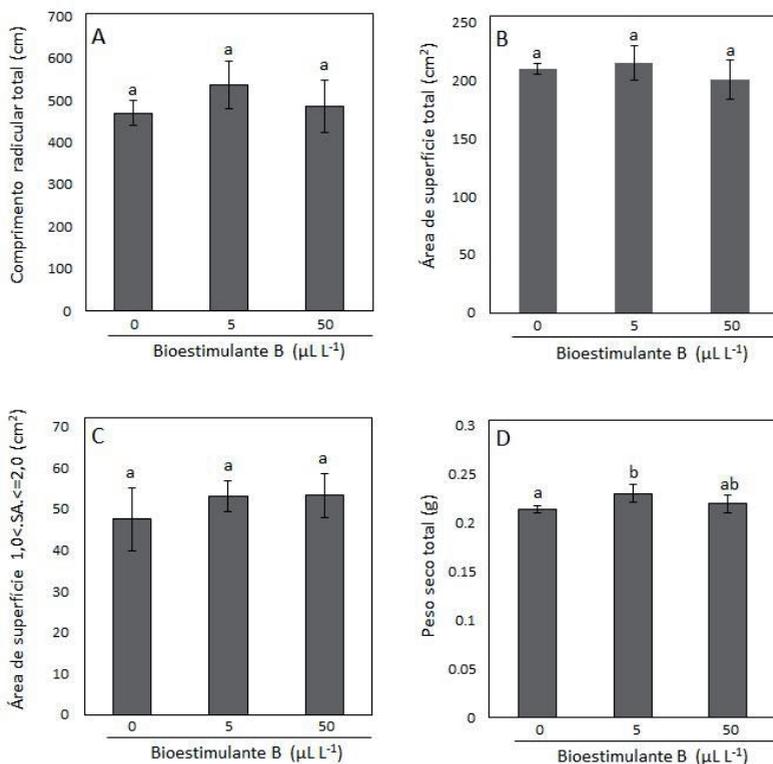


Figura 10. Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho (L521236/CMSM036) após três dias de tratamento com duas doses do bioestimulante B e controle negativo durante três dias de tratamento. (A) Comprimento radicular total (cm), (B) área de superfície total (cm^2), (C) área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm (cm^2), (D) peso seco total (g). As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste (LSD) ($p < 0,05$).

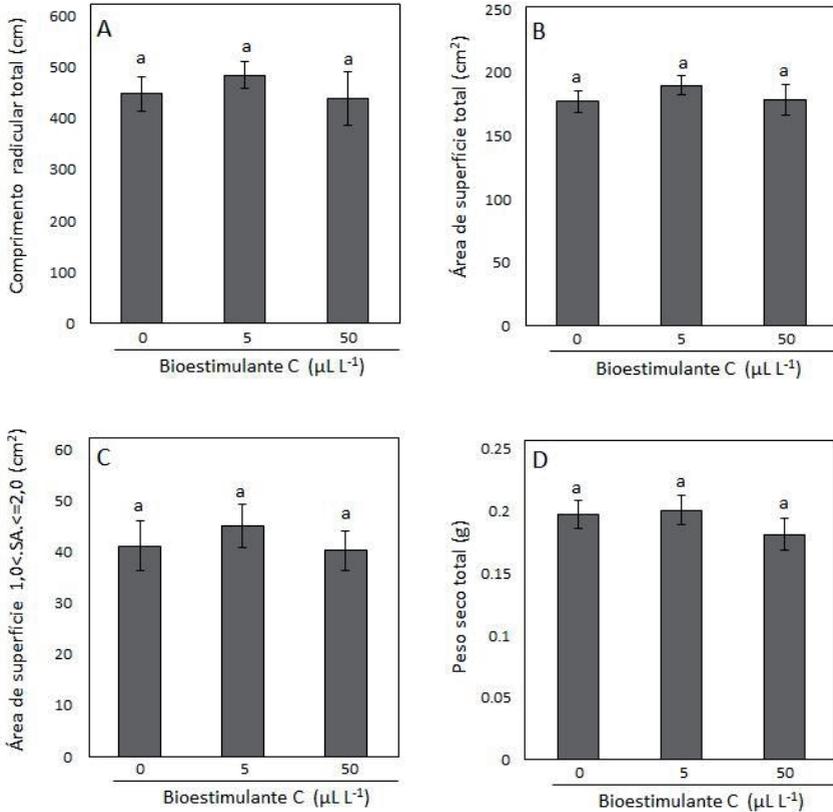


Figura 11. Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho (L521236/CMSM036) após três dias de tratamento com duas doses do bioestimulante C e controle negativo. (A) Comprimento radicular total (cm), (B) área de superfície total (cm²), (C) área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm (cm²), (D) peso seco total (g). As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste (LSD) (p<0,05).

- Plântulas de milho do genótipo 1 (L521236/CMSM036) aclimatadas em -solução nutritiva de Hoagland por sete dias e sob efeito dos bioestimulantes por três e sete dias - Ensaio 4

Na análise de variância, o coeficiente de variação foi baixo para todas as características analisadas no experimento com os bioestimulantes A, B e C (TAB. 14), quando comparado com outros trabalhos com raízes em milho (SOUSA et al., 2012; AZEVEDO et al., 2015), indicando confiabilidade dos dados. A análise de variância mostrou que houve diferença significativa para as características diâmetro médio, área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total, considerando bioestimulante e para comprimento total da raiz, diâmetro médio, área de superfície entre 0 e 1,0 mm, área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total considerando coleta. A interação entre bioestimulante x coleta (BxC) foi significativa apenas para área de superfície entre 2,0 e 4,5 mm e peso seco total. Considerando a coleta 1, três dias de tratamento, houve inibição do crescimento radicular sob tratamento dos bioestimulantes A, B e C (FIG. 12). No entanto, após uma semana de tratamento – coleta 2, foi observado um aumento da área de superfície radicular total e da área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm e 2 e 4,5 mm, além de um aumento significativo no peso seco total (FIG. 13).

Na avaliação do sistema radicular com três dias de tratamento, houve redução de algumas características radiculares para os três produtos, ao contrário do que havia sido observado no ensaio 3. Ademais, mantiveram-se com efeitos nulos em relação ao controle. Já na avaliação com sete dias de tratamento, os bioestimulantes A e C tiveram um efeito positivo significativo da área de superfície total (AST). Além

disso, o produto A também afetou significativamente a área de superfície de raízes entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) de raízes entre 2,0 e 4,5 mm (AS3), e todos os três bioestimulantes tiveram um efeito positivo no peso seco total.

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

O bioestimulante A, à base de substâncias húmicas, teve maior efeito nas plantas de milho nas condições testadas. O processo do aumento do sistema radicular com uso de substâncias húmicas está diretamente ligado à ativação H^+ -ATPase associada a um aumento na absorção de NO_3^- (FAÇANHA et al., 2002), facilitando assimilação de íons, aumentando a respiração celular e a produção de ATP nas células radiculares (FAÇANHA et al., 2002; QUAGGIOTTI et al., 2004; MUSCOLO et al., 2007).

Foram observados efeitos positivos no crescimento radicular de tomate crescido em solução nutritiva com bioestimulantes comerciais à base de ácido húmico extraído de leonardita, especialmente com a dose de 10 mg L^{-1} (ADANI et al., 1998), próxima à dose usada no ensaio 4 (20 mg L^{-1}). Também foram encontrados efeitos positivos no comprimento radicular de plantas de milho crescidas em solução nutritiva com adição de substâncias húmicas extraídas de carvões na dose 30 mg L^{-1} (SIEWERDT et al., 1999) e nas plantas de milho e café submetidas a tratamento com substâncias húmicas na concentração de 40 mg L^{-1} de ácido húmico (FAÇANHA et al., 2002).

Tabela 14. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco do genótipo 1 de milho avaliado sob efeito dos bioestimulantes A, B e C em dois tempos de tratamento.

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

ns não significativo, * significativo a 5% e ** significativo a 0,01 % de probabilidade pelo teste F. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm²), diâmetro médio (DM) (mm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm²) e peso seco total (PST) (g).

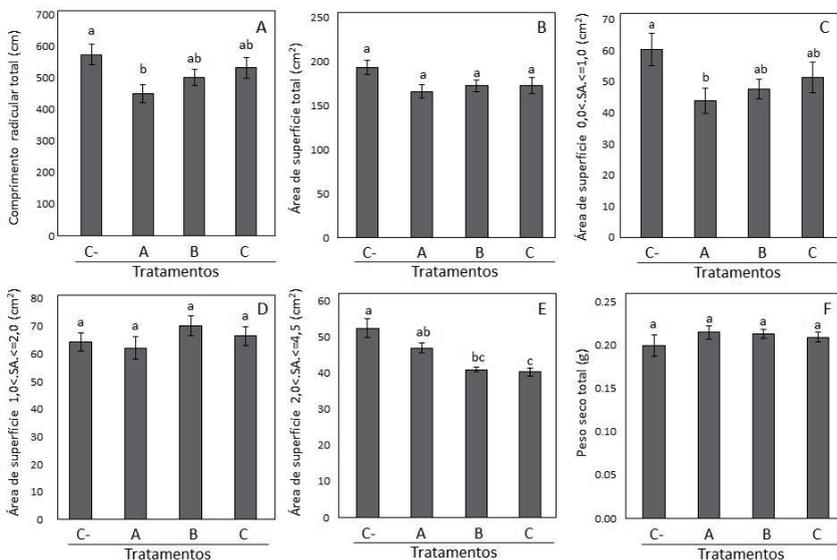


Figura 12. Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho (L521236/CM5M036) após três dias de tratamento com os bioestimulantes A ($54,4 \mu\text{L L}^{-1}$), B ($5,0 \mu\text{L L}^{-1}$) e C ($5,0 \mu\text{L L}^{-1}$) e controle negativo (C-). (A) Comprimento radicular total (cm), (B) área de superfície total (cm²), (C) área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm (cm²), (D) área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm (cm²), (E) área de superfície de raízes com diâmetro entre 2 e 4,5 mm (cm²), (F) peso seco total (g). As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste (LSD) ($p < 0,05$).

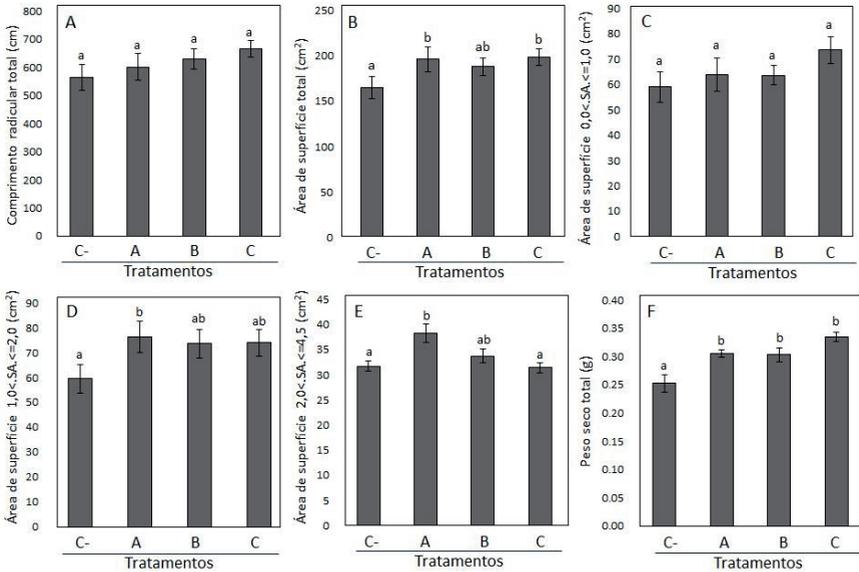


Figura 13. Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho (L521236/CM5M036) após sete dias de tratamento com os bioestimulantes A ($54,4 \mu\text{L L}^{-1}$), B ($5,0 \mu\text{L L}^{-1}$) e C ($5,0 \mu\text{L L}^{-1}$) e controle negativo (C-). (A) Comprimento radicular total (cm), (B) área de superfície total (cm^2), (C) área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm (cm^2), (D) área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm (cm^2), (E) área de superfície de raízes com diâmetro entre 2 e 4,5 mm (cm^2), (F) peso seco total (g). As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste (LSD) ($p < 0,05$).

A adoção de tecnologias e produtos que tenham efeito bioestimulante é promissora, pois esses produtos apresentam substâncias com efeito no enraizamento, como hormônios e ácidos orgânicos e/ou micronutrientes, mas pouco se sabe sobre os mecanismos de ações dessas, tornando o desenvolvimento e, principalmente, a recomendação dos produtos totalmente empírica. O estabelecimento das

condições de avaliação desses produtos é fundamental para se avançar na busca para o melhor entendimento dos mecanismos de ação dos bioestimulantes, que já se estende há décadas. Até hoje, muitas perguntas nessa esfera ainda não estão esclarecidas, principalmente quando se trata do local de atuação dos fitormônios exógenos nos órgãos dos vegetais. No entanto, pesquisas mostram os benefícios dos bioestimulantes em diversas culturas. Além disso, os dados apontam que o uso de bioestimulantes não substitui a adubação com fertilizantes convencionais, mas contribui para redução do uso deles. A inserção de produtos bioestimulantes na agricultura associada com manejo adequado do solo tem apresentado resultados expressivos no ganho de produtividade, que é um fator preponderante para agricultura, tendo em vista uma população que cresce a cada dia. Dessa forma, esse trabalho contribuiu para avançar na busca de estratégias de sustentabilidade, buscando condições ideais para a avaliação da utilização dos bioestimulantes através do desenvolvimento de metodologias adequadas.

Conclusão

Após o teste com diferentes genótipos de milho, doses de bioestimulantes e tempos de tratamento em dois sistemas de crescimento de plantas, pasta e floating, foi possível estabelecer um protocolo de avaliação de características radiculares em plântulas de milho sob efeito de bioestimulantes à base de ácido húmico e aminoácidos. As condições determinadas nesse trabalho permitirão o desenvolvimento de experimentos moleculares e fisiológicos que levarão a uma melhor compreensão da ação dos bioestimulantes, além de contribuir

para novos experimentos, afim de avaliar os efeitos promovidos a partir de outros tipos de bioestimulantes.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Gislene Rodrigues Braga Cristeli pela ajuda na condução dos experimentos e à Embrapa pelo apoio financeiro.

Referências

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

ALBREGTS, E. E.; HOWARD, C. M.; CHANDLER, C.; MITCHELL, R. L. Effect of biostimulants on fruiting of strawberry. Proceedings of the Florida State Horticultural Society, Tallahassee, v. 101, p. 370-372, 1988.

AZEVEDO, G. C.; CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A.; NEGRI, B. F.; HUFNAGEL, B.; COSTA E SILVA, L.; MAGALHÃES, J. V.; GARCIA, A. A. F.; LANA, U. G. P.; SOUSA, S. M.; GUIMARÃES, C. T. Multiple interval QTL mapping and searching for PSTOL1 homologs associated with root morphology, biomass accumulation and phosphorus content in maize seedlings under low-P. **BMC Plant Biology**, v. 15, n. 172, p. 1-17, 2015.

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 383, n. 1/2, p. 3-41, 2014.

CANELLAS, L. P.; TEIXEIRA JÚNIOR, L. R. L.; DOBBSS, L. B.; SILVA, C. A.; MEDICI, L. O.; ZANDONADI, D. B.; FAÇANHA, A. R. Humic acids crossinteractions with root and organic acids. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 153, n. 2, p. 157-166, 2008.

CASILLAS V., J. C.; LONDOÑO I., J.; GUERRERO A., H.; BUITRAGO G., L. A. Análisis cuantitativo de la aplicación de cuatro bioestimulantes en el cultivo del rabano (*Raphanus sativus* L.). **Acta Agronomica**, Palmira, v. 36, n. 32, p.185-195, 1986.

CASTRO, P. R. C.; SERCILOTO, C. M.; PEREIRA, M. A.; RODRIGUES, J. L. M. **Utilização de fosfitos e potencial de aplicação dos aminoácidos na agricultura tropical**. Piracicaba: ESALQ, 2008. 71 p . (Produtor Rural, 38).

COLLA, G.; ROUPHAEL, Y.; CANAGUIER, R.; SVECOVA, E.; CARDARELLI, M. Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 448, p. 1-6, 2014.

COLMAN, B. A.; MASSON, G. de L.; MISSIO, H. G.; NUNES, A. da S.; CEOLIN, A. C. Efeito da adição de inseticidas no tratamento de sementes de soja com bioestimulante. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 5, p. 45-48, 2013.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos: quarto levantamento: safra 2015/16**. Brasília, 2016. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/>

arquivos/16_01_12_14_17_16_boletim_graos_janeiro_2016.pdf>.
Acesso em: 16 jan. 2016.

DOURADO NETO, D.; DARIO, G. J. A.; BARBIERI, A. P. P.; MARTIN, T. N. Ação de bioestimulante no desempenho agrônômico de milho e feijão. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, p. 371-379, 2014. Suplemento 1.

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

ELLIOTT, M. L.; PREVATTE, M. Response of tiftwarf bermudagrass to seaweed-derived biostimulants. **HortTechnology**, Alexandria, v. 6, n. 3, p. 261-263, 1996.

ERTANI, A.; CAVANI, L.; PIZZEGHELLO, D.; BRANDELLERO, E.; ALTISSIMO, A.; CIAVATTA, C.; NARDI, S. Biostimulant activity of two protein hydrolyzates in the growth and nitrogen metabolism of maize seedlings. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Wiley, v. 172, n. 2, p. 237-244, 2009.

FAÇANHA, A. R.; FAÇANHA, A. L. O.; OLIVARES, F. L.; GURIDI, F.; SANTOS, G. de A.; VELLOSO, A. C. X.; RUMJANEK, V. M.; BRASIL, F.; SCHRIPSEMA, J.; BRAZ-FILHO, R.; OLIVEIRA, M. A. de; CANELLAS, L. P. Bioatividade de ácidos húmicos: efeito sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 9, p. 1301-1310, 2002.

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

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

HALPERN, M.; BAR-TAL, A.; OFEK, M.; MINZ, D.; MULLER, T.; YERMIYAHU, U. Chapter two -The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 130, p. 141-174, 2015.

JANNIN, L.; ARKOUN, M.; OURRY, A.; LAÎNE, P.; GOUX, D.; GARNICA, M.; FUENTES, M.; SAN FRANCISCO, S.; BAIGORRI, R.; CRUZ, F.; HOUDUSSE, F.; GARCIA-MINA, J. M.; YVIN, J. C.; ETIENNE, P. Microarray analysis of humic acid effects on Brassica napus growth: Involvement of N, C and S metabolisms. **Plant and Soil**, The Hague, v. 359, n. 1, p. 297-319, 2012.

KELTING, M.; HARRIS, J. R.; FANELLI, J.; APPLETON, B.; NIEMIARA, A. Humate-based biostimulants do not consistently increase growth of container-grown Turkish hazelnut. **Journal of Environmental Horticulture**, Washington, v. 15, n. 4, p. 197-199, 1997.

KLAHOLD, C. A.; GUIMARÃES, V. F.; ECHER, M. de M.; KLAHOLD, A.; CONTIERO, R. L.; BECKER, A. Resposta da soja (*Glycine max* L. Merrill) à ação de bioestimulante. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 179, 2006.

KOWALCZYK, K.; ZIELONY, T.; GAJEWSKI, M. Effect of aminoplant and asahi on yield and quality of lettuce grown on rockwool. In: GAWRO SKA, H. (Ed.). **Biostimulators in modern agriculture: general aspects**. Varsóvia: Wie Jutra, 2008. p. 35-43.

HECKMAN, J. R. Evaluating phosphorous fertilization and commercial biostimulants for producing cabbage. **HortTechnology**, Alexandria, v. 5, n. 4, p. 298-300, 1995.

LAMBAIS, G. R. **Aminoácidos como coadjuvantes da adubação foliar e do uso do glifosato na cultura de soja**. 2011. 97 p. Dissertação. (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Piracicaba.

LIMBERGER, P. A.; GHELLER, J. A. Efeito da aplicação foliar de extrato de algas, aminoácidos e nutrientes via foliar na produtividade e qualidade de alface crespa. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 1, n. 1, p. 148-161, 2012.

LIU, C.; MUCHHAL, U. S.; UTHAPPA, M.; KONONOWICZ, A. K.; RAGHOTHAMA, K. Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissue by phosphorus. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 116, n. 1, p. 91-99, 1998.

LOSS, A.; PEREIRA, M. G.; SCHULTZ, N.; ANJOS, L. H. C. dos; SILVA, E. M. R. da. Quantificação do carbono das substâncias húmicas em diferentes sistemas de uso do solo e épocas de avaliação. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 4, p. 913-922, 2010.

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

MORAES, J. G. V. **Biofertilizantes**: identificação das barreiras regulatórias e propostas para viabilizar esse insumo agrícola. 2015. 91 p. Dissertação. (Mestrado em Agronegócio) - Escola de Economia de São Paulo, Fundação Getúlio Vargas, São Paulo.

MUSCOLO, A.; SIDARI, M.; FRANCIOSO, O.; TUGNOLI, V.; NARDI, S. The auxin-like activity of humic substances is related to membrane interactions in carrot cell cultures. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 33, n. 1, p. 115-129, 2007.

OLIVEIRA, F. de A. de; MEDEIROS, J. F. de; OLIVEIRA, M. K. T. de; SOUZA, A. A. T.; FERREIRA, J. A.; SOUZA, M. S. Interação entre salinidade e bioestimulante na cultura do feijão caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 5, p. 465-471, 2013.

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

QUAGGIOTTI, S.; RUPERTI, B.; PIZZEGHELLO, D.; FRANCIOSO, O.; TUGNOLI, V.; NARDI, S. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). **Journal of Experimental Botany**, London, v. 55, n. 398, p. 803-813, 2004.

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

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

SANTOS, V. M. dos; MELO, A. V. de; CARDOSO, D. P.; GONCALVES, A. H.; VARANDA, M. A. F.; TAUBINGER, M. Uso de bioestimulantes no crescimento de plantas de *Zea mays* L. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 12, n. 3, p. 307-318, 2013.

SCHIAVON, M.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A.; VACCARO, S.; FRANCIOSO, O.; NARDI, S. High molecular size humic substances enhance phenylpropanoid metabolism in maize (*Zea mays* L.). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 6, p. 662-669, 2010.

SIEWERDT, L.; SILVA, R.; JABLONSKI, A.; SILVEIRA JÚNIOR, P. Crescimento da parte aérea e do sistema radicular do milho cultivado em solução nutritiva adicionada de substâncias húmicas. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 5, n. 2, 1999.

SILVA, A. C.; CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; DPBBSS, L. B.; AGUIAR, N. O.; FRADE, D. A. R.; REZENDE, C. E.; PERES, L. E. P. Promoção do crescimento radicular de plântulas de tomateiro por substâncias húmicas isoladas de turfeiras. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 35, n. 5, p. 1609-1617, 2011.

SILVA, L. C. F.; MANIERO, M. A.; CASAGRANDE, J. C.; STOLF, R.; PIEDADE, S. M. S. Agricultura bioestimulada. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, v. 14, p. 34-35, 2012.

SOUSA, S. M. de; CLARK, R. T.; MENDES, F. F.; OLIVEIRA, A. C. de; VASCONCELOS, M. J. V. de; PARENTONI, S. N.; KOCHIAN, L. V.; GUIMARÃES, C. T.; MAGALHÃES, J. V. A role for root morphology and related candidate genes in P acquisition efficiency in maize. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 39, n. 11, p. 925-935, 2012.

TANAKA, M. T.; SENGIK, E.; SANTOS, H. da S.; HABEL JÚNIOR, C.; SCAPIM, C. A.; KVITSCHAL, M. V.; ARQUEZ, I. C. Efeito da aplicação foliar de biofertilizantes, bioestimulantes e micronutrientes na cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 315-321, 2008.

TECCHIO, M. A.; LEONEL, S.; CAMILI, E. C.; MOREIRA, G. C.; PAIOLI-PIRES, E. J.; RODRIGUES, J. D. Uso de bioestimulante na videira 'Niagara Rosada'. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1236-1240, 2006.

ZANDONADI, D. B.; SANTOS, M. P.; MEDICI, L. O.; SILVA, J. da. Ação da matéria orgânica e suas frações sobre a fisiologia de hortaliças. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 32, n. 1, p. 14-20, jan./mar. 2014.

