



**Universidade Federal do Tocantins  
Campus Universitário de Gurupi  
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal**

ANTONIO CARLOS MARTINS DOS SANTOS

**SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E AMINOÁCIDOS MELHORAM A  
MORFOFISIOLOGIA DO CAPIM MOMBAÇA**

**GURUPI - TO  
2019**

ANTONIO CARLOS MARTINS DOS SANTOS

**SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E AMINOÁCIDOS MELHORAM A  
MORFOFISIOLOGIA DO CAPIM MOMBAÇA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em  
Produção Vegetal da Universidade Federal do  
Tocantins como parte dos requisitos para a obtenção do  
título de Doutor em Produção Vegetal.

**Orientador:** Prof. Dr. Rubens Ribeiro da Silva

**GURUPI - TO**

**2019**

## FICHA CATALOGRÁFICA

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

---

- S237s Santos, Antonio Carlos Martins.  
Substâncias húmicas e aminoácidos melhoram a morfofisiologia do capim mombaça. / Antonio Carlos Martins Santos. – Gurupi, TO, 2019.  
53 f.
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Doutorado) em Produção Vegetal, 2019.  
Orientador: Rubens Ribeiro da Silva
1. Megathyrsus maximus. 2. Bioestimulante. 3. Qualidade de pastagem. 4. Nitrogênio. I. Título

**CDD 635**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

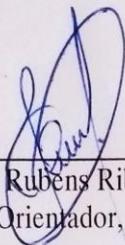
**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

ANTONIO CARLOS MARTINS DOS SANTOS

**SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E AMINOÁCIDOS MELHORAM A  
MORFOFISIOLOGIA DO CAPIM MOMBAÇA**

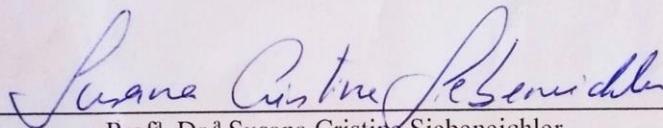
Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em  
Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins  
como parte dos requisitos para a obtenção do título de  
Doutor em Produção Vegetal.

Data de aprovação: 10/06/2019



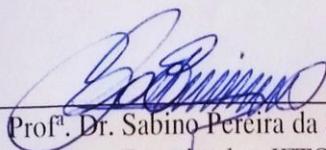
---

Prof. Dr. Rubens Ribeiro da Silva  
Orientador, UFT



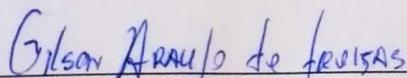
---

Prof.ª Dr.ª Susana Cristine Siebeneichler  
Examinador, UFT



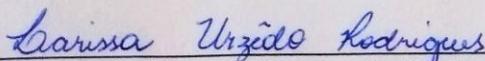
---

Prof.ª Dr. Sabino Pereira da Silva Neto  
Examinador, IFTO



---

Eng. Agrônomo Dr. Gilson Araújo de Freitas  
Examinador, UFT



---

Eng. Agrônoma Dr.ª Larissa Urzêdo Rodrigues  
Examinador, UFT

Dedico esse trabalho à Deus, em primeiro lugar.  
Aos meus pais Antonio dos Santos e Ivanilda Martins Mundim e à minha irmã Nayara  
Martins dos Santos, por todo incessante apoio!

## AGRADECIMENTOS

À Deus pelas graças derramadas em minha vida, pela oportunidade e privilégio de ter me permitido chegar até aqui.

Aos meus pais Antonio dos Santos e Ivanilda Martins Mundim por estarem sempre ao meu lado, me ajudando em todos os momentos da minha vida.

A minha irmã Nayara e meu cunhado Elliel, pelo companheirismo e amizade, sempre me apoiando e ajudando em tudo.

Ao Profº. Dr. Rubens Ribeiro da Silva, pela paciência, orientação e ensinamentos no decorrer desses anos.

Aos companheiros do Núcleo de Estudos em Resíduos Orgânicos - NERO: Ao Gilson Araújo, Paulo, Moisés, Álvaro, Adriana, Evandro, Tayná, Carlos Eduardo, Nara, Gilson Alexandrino. E em especial à, Ângela pelo auxílio na fase inicial de laboratório. À Lara, Fabriny e Bruno pela ajuda na implantação e condução do experimento. Obrigado a todos vocês pela dedicação e empenho no desenvolvimento deste trabalho.

Aos doutores Larissa e Vitor pelas contribuições científicas e na redação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e seus docentes pelos conhecimentos repassados ao longo desses anos.

À Universidade Federal do Tocantins pelas contribuições, inclusive na realização deste trabalho.

Aos Amigos e compadres pelo intermitente companheirismo e amizade fiel, que sempre levarei comigo.

À CAPES, pela concessão de bolsa e recursos disponibilizados durante o período do curso de Pós graduação Stricto Sensu em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins.

A todos que contribuíram para que eu pudesse subir mais esse degrau, não canso de agradecer. Muito Obrigado!

## RESUMO GERAL

As substâncias húmicas e os aminoácidos podem promover efeitos positivos no desenvolvimento das plantas, além disso, se associados à adubações nitrogenadas podem potencializar o crescimento vegetal, alterando características fisiológicas e a absorção de nutrientes. Assim, devido a importância das forrageiras para a pecuária brasileira e o potencial dos bioestimulantes e do nitrogênio em cobertura para as plantas, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de substâncias húmicas e aminoácidos associados ou não com adubação de cobertura nitrogenada na produção, fisiologia e teor de proteína do capim Mombaça. Para isso, foram realizados dois experimentos, o primeiro conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os 21 tratamentos foram obtidos no esquema fatorial 4x5+1, sendo o primeiro fator cinco fontes de bioestimulantes (Substância húmica, Glicina, Prolina, Substância húmica + Glicina e Substância húmica + Prolina) e o segundo quatro doses (2; 4; 6 e 8 L ha<sup>-1</sup>), mais um tratamento adicional (testemunha), composto pela ausência da aplicação de bioestimulante. Foi observado que a aplicação de substância húmica e aminoácidos alterou a morfologia e fisiologia das plantas, principalmente, altura de plantas, área foliar, condutância estomática, taxa transpiratória, eficiência instantânea de carboxilação e a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>. Além disso, houve um incremento médio de 33% a produção de massa seca e 21% o teor de proteína do capim Mombaça, com o uso das fontes Substância Húmica e Prolina. O segundo experimento também conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, no esquema fatorial 4x5+1. Entretanto, todos os 21 tratamentos receberam adubação de cobertura nitrogenada (50 kg ha<sup>-1</sup> de N) após os dois primeiros cortes no capim, aos 48 e 78 dias após a emergência. O primeiro fator foi composto por cinco fontes de bioestimulantes (Substância húmica, Glicina, Prolina, Substância húmica + Glicina e Substância húmica + Prolina) e o segundo quatro doses (2; 4; 6 e 8 L ha<sup>-1</sup>), mais um tratamento adicional (testemunha), composto pela cobertura nitrogenada e ausência de bioestimulante. O uso de substâncias húmicas e aminoácidos, associados à adubação de cobertura nitrogenada foram eficazes na promoção do desenvolvimento de capim Mombaça, incrementando a altura de plantas, produção de biomassa da parte aérea, teor de proteína, bem como os aspectos fisiológicos de condutância estomática e taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>. Para a produção de massa as fontes mais eficientes foram Substância Húmica e Substância Húmica+Prolina, aumentando em média 13% a matéria natural e 4% a massa seca do capim Mombaça. Já para o teor de proteína as melhores fontes foram Substância Húmica e Substância Húmica+Glicina, incrementando em 8% a proteína total. Assim, fica evidenciado que os bioestimulantes aumentam a produção e melhoram o teor de proteína da forrageira devido, principalmente, as alterações na morfologia e fisiologia das plantas, sendo o uso de Substância Húmica, Substância Húmica+Prolina e Substância Húmica+Glicina as mais eficientes. Ademais, é notório que os ganhos são mais expressivos na condição de ausência de adubação de cobertura (33% em massa seca) quando comparados aos promovidos pela associação de cobertura nitrogenada e bioestimulantes (4% em massa seca).

**Palavras-chave:** Bioestimulantes, *Megathyrus maximus*, nitrogênio, produtividade da pastagem; qualidade da forragem.

## OVERVIEW

Humic substances and amino acids can promote positive effects on plant development. In addition, if they are associated with nitrogen fertilizations, they can potentiate plant growth, altering physiological characteristics and nutrient absorption. Thus, due to the importance of forages for Brazilian cattle raising and the potential of biostimulants and nitrogen in covering for plants, the objective of this work was to evaluate the effect of humic substances and amino acids associated or not with nitrogen cover fertilization in the production, physiology and protein content of the Mombasa grass. For this, two experiments were carried out, the first conducted in a completely randomized design with four replicates. The 21 treatments were obtained in the factorial scheme 4x5+1, being the first factor five sources of biostimulants (Humic Substance, Glycine, Proline, Humic Substance + Glycine and Humic Substance + Proline) and the second four doses (2; 4; 6 and 8 L ha<sup>-1</sup>), plus an additional treatment (control), consisting of the absence of application of biostimulant. It was observed that the application of humic substance and amino acids altered the morphology and physiology of plants, mainly plant height, leaf area, stomatal conductance, transpiratory rate, instantaneous carboxylation efficiency and CO<sub>2</sub> assimilation rate. In addition, there was an average increment of 33% in the dry matter production and 21% in the protein content of the Mombasa grass, with the use of the Humic Substance and Proline sources. The second experiment was also conducted in a completely randomized design with four replicates, in the 4x5+1 factorial scheme. However, all 21 treatments received nitrogen fertilization (50 kg ha<sup>-1</sup> of N) after the first two cuts in the grass, at 48 and 78 days after emergence. The first factor five sources of biostimulants (Humic Substance, Glycine, Proline, Humic Substance + Glycine and Humic Substance + Proline) and the second four doses (2; 4; 6 and 8 L ha<sup>-1</sup>), plus an additional treatment (control), consisting of the nitrogen cover and absence of biostimulant. The use of humic substances and amino acids associated with nitrogen cover fertilization were effective in promoting the development of Mombasa grass, increasing plant height, shoot biomass production, protein content, as well as the physiological aspects of stomatal conductance and CO<sub>2</sub> assimilation rate. For mass production the most efficient sources were Humic Substance and Substance + Proline, increasing on average 13% natural matter and 4% the dry mass of the Mombasa grass. For the protein content, the best sources were Humic Substance and Humic Substance + Glycine, increasing the total protein by 8%. Thus, it is evidenced that biostimulants increase production and improve forage protein content, mainly due to changes in plant morphology and physiology, with the most efficient use of Humic Substance, Substance + Proline and Humic Substance + Glycine. In addition, it is notorious that the gains are more significant in the condition of absence of cover fertilization (33% in dry mass) when compared to those promoted by the association of nitrogen cover and biostimulants (4% in dry mass).

**Keywords:** Biostimulants, *Megathyrsus maximus*, nitrogen, pasture productivity, forage quality.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>6</b>
<b>CAPÍTULO I: Substância húmica e aminoácidos na produção, fisiologia e teor de proteína do capim mombaça.....</b>	<b>10</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
2.2 Design experimental e tratamentos .....	14
2.3 Mensurações no capim Mombaça .....	15
2.4 Análise Estatística .....	16
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>17</b>
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>23</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>27</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>28</b>
<b>CAPÍTULO II: Substância húmica e aminoácidos associados à adubação nitrogenada em cobertura na produção, fisiologia e teor de proteína do capim mombaça .....</b>	<b>32</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>34</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>36</b>
2.1 Local e preparação das unidades experimentais.....	36
2.2 Design experimental e tratamentos .....	37
2.3 Mensurações no capim Mombaça .....	38
2.4 Análise Estatística .....	39
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>40</b>
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>48</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>49</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>50</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

As pastagens representam mais de 200 milhões de hectares cultivados no Brasil, sendo distribuídas em diferentes regiões e períodos do ano (GALINDO et al., 2018). Dentre as espécies de maior importância está o capim *Megathyrsus maximus* cv. Mombaça, que apresenta elevado potencial de produção de matéria seca, sendo adaptada a diferentes condições de clima e solo (SILVA et al., 2018).

Nesse cenário, sistemas intensivos de produção que pressupõem maior eficiência de exploração agropecuária em ambientes tropicais podem trazer benefícios ao incrementar a capacidade produtiva sem a necessidade de abertura de novas áreas (MARTHA et al., 2012). Para isso, o manejo desses sistemas envolve, por exemplo, práticas de adubação, controle do pastejo e manutenção do valor nutritivo das pastagens.

De acordo com Sanches et al. (2013) ganhos expressivos na produção de biomassa das forrageiras podem ser alcançados com o uso de fertilizantes, especialmente os nitrogenados. Assim, trabalhos como os de Euclides et al. (2007), Faria et al. (2015) e Sanches et al. (2018) demonstraram melhorias nos aspectos produtivos de *Panicum maximum* (*M. maximum*) com aplicação de aproximadamente 50 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio (N) em cobertura, evidenciando a essencialidade do nutriente para a produtividade dessas gramíneas.

Aliado a isso, a suplementação com bioestimulantes pode aprimorar os efeitos positivos da adubação com N em pastagens, devido, principalmente, à sua capacidade de aumentar o crescimento vegetal, a resistência à estresses abióticos e bióticos, a qualidade da cultura e a eficiência no uso de nutrientes pelas plantas (DU JARDIN, 2015). Nesse sentido, destacam-se entre as principais fontes de bioestimulantes as substâncias húmicas (SH) e os aminoácidos, como glicina e prolina.

Os efeitos diretos desses compostos sobre a fisiologia e morfologia das plantas incluem: mudanças na estrutura da raiz, aumento na atividade da H<sup>+</sup>-ATPase, melhoria da mobilidade de nutrientes na planta, fotossíntese e metabolismo de proteínas e de nitrogênio, com aumento na atividade das enzimas de assimilação de Nitrato (HALPERN et al., 2015; SHAH et al., 2018).

Diversos pesquisadores têm demonstrado alterações produtivas em plantas sob a aplicação de substâncias húmicas (ANJUM et al., 2011; SANTOS et al., 2018; SILVA et al., 2019). Os efeitos dessas substâncias em diferentes espécies resultaram no aumento de 22 ± 4% do peso seco da parte aérea e de 21 ± 6% do peso seco das raízes, como verificado por Rose et al. (2014), através de uma meta-análise. Em *Brachiaria decumbens*, o fornecimento de ácido

húmico (15 dias após a emergência do capim) aumentou a altura das plantas em 44% e a biomassa em 196% (PINHEIRO et al., 2018).

Com relação aos aminoácidos, sua ação em gramíneas, como o milho, promoveu maior estimulação de enzimas de assimilação de nitrato, tanto na parte aérea quanto na raiz (SCHIAVON et al., 2008), enquanto que em cana-de-açúcar o uso de produtos contendo SH e aminoácidos não influenciou a eficiência nutricional, embora tenha aumentado a produtividade de colmos (OLIVEIRA et al., 2018). Todavia, são escassos resultados dessas fontes em forrageiras, principalmente, em *Megathyrsus maximus* Jacq. cv. Mombaça.

Portanto, a aplicação de bioestimulantes à base de substância húmica e aminoácidos, associados ou não a adubação nitrogenada em cobertura pode melhorar o desenvolvimento de forrageiras, visto a capacidade que esses compostos possuem em estimular o crescimento vegetal, absorção de nutrientes e o aumento de produtividade. Dessa forma, objetivou-se com este trabalho avaliar o uso de substâncias húmicas e aminoácidos, em condição de ausência e presença de adubação de cobertura nitrogenada, na morfologia, teor de proteína, fisiologia e produção de *Megathyrsus maximus* Jacq. cv. Mombaça.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANJUM, S. A.; WANG, L.; FAROOQ, M.; XUE, L.; ALI, S. Fulvic acid application improves the maize performance under well watered and drought conditions. *Journal of Agronomy and Crop Science*, v. 197, p. 409–417, 2011.
- DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, v. 196, p. 3–14, 2015.
- EUCLIDES, V. P. B.; MACEDO, M. C. M.; ZIMMER, A. H.; MEDEIROS, R. N.; OLIVEIRA, M. P. Características do pasto de capim-tanzânia adubado com nitrogênio no final do verão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 42, p. 1189-1198, 2007.
- FARIA, A. J. G.; FREITAS, G. A.; GEORGETTI, A. C. P.; FERREIRA JÚNIOR, J. M.; SILVA, M. C. A.; SILVA, R. R. Efeitos da adubação nitrogenada e potássica na produtividade do capim mombaça cultivados sobre adubação fosfatada. *Journal of Bioenergy and Food Science*, v. 2, p. 98-106, 2015.
- GALINDO, F. S.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; DUPAS, E.; CARVALHO, F. C. Manejo da adubação nitrogenada no capim-mombaça em função de fontes e doses de nitrogênio. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 41, p. 900-913, 2018.
- HALPERN, M.; BAR-TAL, A.; OFEK, M.; MINZ, D.; MULLER, T.; YERMIYAHU, U. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. *Advances in Agronomy*, v. 130, p. 141–174, 2015.
- MARTHA Jr., G. B.; ALVES, E.; CONTINI, E. Land-saving approaches and beef production growth in Brazil. *Agricultural Systems*, v. 110, p. 173-177, 2012.
- OLIVEIRA, M. W.; SILVA, V. S. G.; OLIVEIRA, T. B. A.; NOGUEIRA, C. R. C.; FRANCO JÚNIOR, C. L.; BRITO, F. S.; SANTOS, G. C. S. Humic substances, amino acids and marine algae extract increase sugarcane productivity. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 41, p. 408-414, 2018.
- PINHEIRO, P. L.; PASSOS, R. R.; PEÇANHA, A. L.; CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. O.; MENDONÇA, E. S. Promoting the growth of *Brachiaria decumbens* by humic acids (HAs). *Australian Journal of Crop Science*, v. 12, p. 1114-1121, 2018.
- ROSE, M. T.; PATTI, A. F.; LITTLE, K. R.; BROWN, A. L. 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.

SANCHES, L. A.; ARAUJO, L. C.; ARAUJO, S. N. S.; OLIVEIRA, A. T. C.; SANTOS, A. C.; OLIVEIRA, L. B. T. Sowing season and nitrogen fertilization rates in two oats cultivars grown under greenhouse conditions. *Journal of Agricultural Science*, v. 10, p. 133-141, 2018.

SANCHES, S. S. C.; GALVÃO, C. M. L.; RODRIGUES, R. C.; SIQUEIRA, J. C.; JESUS, A. P. R.; ARAÚJO, J. S.; SOUSA, T. V. R. Produção de forragem e características morfofisiológicas do capim-mulato cultivado em latossolo do cerrado em função de doses de nitrogênio e potássio. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável*, v. 3, p. 81-89, 2013.

SANTOS, A. C. M.; RODRIGUES, L. U.; ANDRADE, C. A. O.; CARNEIRO, J. S. S.; SILVA, R. R. Ácidos húmicos e nitrogênio na produção de mudas de alface. *Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia*, v. 11, p. 69-77, 2018.

SCHIAVON, M.; ERTANI, A.; NARDI, S. Effects of an alfalfa protein hydrolysate on the gene expression and activity of enzymes of TCA cycle and N metabolism in *Zea mays* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, n. 24, p. 11800–11808, 2008.

SHAH, Z. H.; REHMAN, H. M.; AKHTAR, T.; ALSAMADANY, H.; HAMOOH, B. T.; MUJTABA, T.; DAUR, I.; AL ZHRANI, Y.; ALZHRANI, H. A. S.; ALI, S.; YANG, S. H.; CHUNG G. Humic Substances: determining potential molecular regulatory processes in plants. *Frontier in Plant Science*, v. 9, p. 1-12, 2018.

SILVA, R. R.; SANTOS, A. C. M.; CARNEIRO, J. S. S.; MARQUES, L. C.; RODRIGUES, L. U.; FARIA, A. J. G.; FREITAS, G. A.; NASCIMENTO, V. L. Biostimulants based on humic acids, amino acids and vitamins increase growth and quality of lettuce seedlings. *Journal of Agricultural Science*, v. 11, p. 235-246, 2019.

SILVA, R. R.; RODRIGUES, L. U.; SANTOS, A. C. M.; ALEXANDRINO, E.; FREITAS, G. A.; Abordagem nutricional em capim Mombaça. In: SILVA, R. R.; FREITAS, G. A. Capim Mombaça: correção da acidez, gessagem, adubação, bioestimulante, morfofisiologia, qualidade e manejo da pastagem. Palmas: EDUFT, v. 1, 2018. 253p.

## CAPÍTULO I

### SUBSTÂNCIA HÚMICA E AMINOÁCIDOS NA PRODUÇÃO, FISIOLOGIA E TEOR DE PROTEÍNA DO CAPIM MOMBAÇA

**RESUMO:** Os bioestimulantes alteram a fisiologia das plantas, aumentando a eficiência do uso de nutrientes, resistência à estresses e melhoram as características produtivas e de qualidade das culturas, podendo ser alternativa para potencializar a produtividade das pastagens no Brasil. Desse modo, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de fontes e doses de bioestimulantes à base de substâncias húmicas e aminoácidos na produção, fisiologia e teor de proteína do capim Mombaça. Para isso, foi conduzido um experimento em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições em esquema fatorial 4x5+1, sendo o primeiro fator cinco bioestimulantes (Substância húmica, Glicina, Prolina, Substância húmica+Glicina e Substância húmica+Prolina) e o segundo quatro doses (2; 4; 6 e 8 L ha<sup>-1</sup>), mais um tratamento adicional (testemunha), composto pela ausência da aplicação de bioestimulante. O uso de bioestimulantes aumentou em 33% a produção de massa seca e 21% o teor de proteína do capim Mombaça, sendo a Substância Húmica e a Prolina, nas doses estimadas de 6,5 e 3,1 L ha<sup>-1</sup>, respectivamente, as fontes mais eficientes. As melhorias produtivas da forrageira sob a aplicação dos bioestimulantes ocorrem devido, principalmente, as alterações na morfologia como, altura de plantas e área foliar e nos aspectos fisiológicos de condutância estomática, taxa transpiratória, eficiência instantânea de carboxilação e taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>.

**Palavras-chave:** *Megathyrus maximus*, bioestimulante, produtividade de pastagem, qualidade de pastagem, proteína bruta.

### HUMIC SUBSTANCES AND AMINO ACID IN THE PRODUCTION, PHYSIOLOGY AND PROTEIN CONTENT OF THE MOMBASA GRASS

**ABSTRACT:** Biostimulants alter plant physiology, increasing the efficiency of nutrient use, resistance to stress and improve the productive and quality characteristics of the crops, can be an alternative to increase pasture productivity in Brazil. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of sources and doses of biostimulants based on humic substances and amino acids on the production, physiology and protein content of the Mombasa grass. For this, a completely randomized design experiment was carried out, with four replicates in factorial scheme 4x5+1, being the first factor was five biostimulants (Humic Substance, Glycine, Proline, Humic Substance + Glycine and Humic Substance + Proline) and the second four doses (2, 4, 6 and 8 L ha<sup>-1</sup>) plus one additional treatment (control), composed by the absence of the application of biostimulant. The use of biostimulants increased in 33% the production of dry matter and 21% the protein content of Mombaça grass, being the Humic Substance and Proline, in the estimated doses of 6.5 and 3.1 L ha<sup>-1</sup>, respectively, the most efficient sources. The productive improvements of the forage under the application of the biostimulants occur mainly due to changes in morphology such as plant height and leaf area and physiological aspects of stomatal conductance, transpiration rate, efficiency Instant carboxylation and CO<sub>2</sub> assimilation rate.

**Keywords:** *Megathyrus maximus*, biostimulant, pasture productivity, grazing quality, crude protein.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os maiores produtores mundiais de bovinos, com 232,5 milhões de cabeças, produzindo atualmente 9,7 milhões de toneladas de carne (USDA, 2017; ABIEC, 2016). No entanto, apenas 3% do rebanho é terminado em sistema intensivo, o que torna indispensável o cultivo de forrageiras contribuindo como base da alimentação animal em uma área de aproximadamente 173 milhões de hectares; embora estima-se que cerca de 50 a 70% das áreas apresentam algum grau de degradação (DIEESE, 2011; DIAS-FILHO, 2014).

Nesse cenário, um dos maiores desafios para a pecuária a pasto é a adoção de técnicas de manejo que promovam o crescimento das plantas e a melhoria na absorção de nutrientes. Segundo Cunha et al. (2016), o uso de bioestimulantes tem incrementado o potencial produtivo de várias culturas; entre os principais grupos desses produtos estão as substâncias húmicas (SHs), aminoácidos, hormônios e extratos de algas marinhas (KAUFFMAN et al., 2007; DU JARDIN, 2012).

As SHs consistem no produto final da decomposição microbiana e degradação química da biota morta em solos (SCHIAVON et al., 2010). O efeito bioestimulante em plantas é relatado em diferentes espécies, incluindo cultivos como soja (CHEN et al. 2004), trigo (TAHIR et al., 2011), milho (ANJUM et al., 2011), feijão (AYDIN et al., 2012) e batata (SELIM et al., 2012), demonstrando aumento nos aspectos de crescimento destas culturas. De maneira semelhante, os bioestimulantes à base de aminoácidos, como glicina e prolina, têm promovido acréscimos na produção de biomassa, que resultou em aumento de produtividade do milho, alface e tomate (SCHIAVON et al., 2008; COLLA et al., 2017; SILVA et al., 2019).

Além disso, é atribuído à essas substâncias alterações na fisiologia, bioquímica e absorção de nutrientes das plantas, como: aumento no teor de clorofila, percentual de proteína, taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>, carboidratos totais, maior atividade da bomba de próton H<sup>+</sup>-ATPase da membrana plasmática, captação de N, P e K, além de redução na condutância estomática e transpiração (MURILLO et al., 2005; TAIZ e ZEIGER, 2009; MAZHAR et al., 2012; CALVO et al., 2014; HALPERN et al., 2015).

Resultados da ação combinada de SHs e aminoácidos (glicina e prolina) foram observados por Silva et al. (2019) em alface, que provocou incremento na absorção de nitrogênio e na morfologia, principalmente no desenvolvimento radicular e melhorou a qualidade das mudas. Pesquisa recente com *Brachiaria decumbens* mostrou que o uso de ácido húmico (15 dias após a emergência do capim) na concentração de 60 mg L<sup>-1</sup> de C aumenta em

44% a altura das plantas e 196% a biomassa da gramínea (PINHEIRO et al., 2018). No entanto, trabalhos que demonstram os efeitos de bioestimulantes em forrageira ainda são escassos.

Portanto, devido a capacidade que os bioestimulantes possuem em alterar a fisiologia, bioquímica, absorção de nutrientes das plantas e melhorar a produção de plantas, inclusive gramíneas, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de bioestimulantes à base de substâncias húmicas e aminoácidos na morfologia, teor de proteína, fisiologia e produção de *Megathyrsus maximus* Jacq. cv. Mombaça.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local e Preparação das unidades experimentais

O trabalho foi conduzido na área experimental da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus Universitário de Gurupi. A área está localizada nas coordenadas de 11°44'44,16" de latitude S e 49°03'04,17" de longitude W, a 280 m de altitude no sul do estado do Tocantins. O experimento foi realizado sob casa de vegetação com dimensões de 5,0 x 20,0 m de largura e comprimento respectivamente, e pé-direito de 2,80 m, com cobertura de plástico transparente de 150 micras.

As unidades experimentais foram constituídas por vasos plásticos perfurados na base com capacidade para 8,0 dm<sup>3</sup>, preenchidos com Latossolo Vermelho-Amarelo. Para isso, o solo foi seco ao ar, durante uma semana, destorroado, peneirado (malha de 2,0 mm) e submetido à caracterização química e textural, conforme metodologia recomendada por Texeira et al. (2017) (Tabela 1).

**Tabela 1:** Análise química e textural do solo utilizado no experimento de fontes e doses de bioestimulantes em capim *Megathyrsus maximus* Jacq. cv. Mombaça. Gurupi-TO, 2019.

Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	K	P	M.O.	pH	Areia	Silte	Argila	V%
----- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----						mg dm <sup>-3</sup>		g dm <sup>-3</sup>	CaCl <sub>2</sub>	----- (g kg <sup>-1</sup> ) -----			
0,2	0,1	0	2,8	0,33	3,13	12	0,2	11	4,9	500	50	450	10

A calagem foi incorporada ao solo utilizando a fonte calcário dolomítico com a finalidade de elevar a saturação por bases para 60%, utilizando a dosagem calculada de 1,65 t ha<sup>-1</sup>, já corrigido para o poder relativo de neutralização total (PRNT) de 100%. O calcário misturado ao solo permaneceu em incubação por 30 dias. A recomendação da adubação para estabelecimento da cultura foi realizada segundo Ribeiro et al. (1999), a partir do resultado da análise do solo. Foi realizada adubação de estabelecimento da cultura com: Ureia como fonte de nitrogênio (50 kg ha<sup>-1</sup> de N), Superfosfato Simples como fonte de fósforo (90 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), Cloreto de potássio como fonte de potássio (40 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O). O fertilizante fonte de micronutrientes FTE BR12 foi aplicado em dose fixa de 120 kg ha<sup>-1</sup>, correspondendo à 2,16; 0,96; 2,4; 8,4 e 0,12 kg ha<sup>-1</sup> de Boro, Cobre, Manganês, Zinco e Molibdênio, respectivamente.

A forrageira utilizada foi o capim *Megathyrsus maximus* Jacq. cv. Mombaça. A quantidade de sementes foi determinada segundo o valor cultural (germinação -%, pureza -%,

VC -%) da semente. A semeadura foi realizada marcando-se um círculo distando 5 cm da lateral do vaso com 1,0 cm de profundidade.

Aos 10 dias após a emergência (DAE) das plantas foi realizado o primeiro desbaste, deixando-se cinco plantas bem distribuídas por vaso, o segundo desbaste foi realizado aos 20 DAE a, deixando-se apenas três plantas por vaso. Aos 48 DAE das plantas foi realizado o corte de uniformização, efetuando o corte a 30 cm de altura a partir da superfície do solo. Os tratos culturais foram realizados de acordo com a demanda da cultura. Semanalmente os vasos foram remanejados, mudando sua posição segundo um sorteio, de forma que não fossem influenciados por microclima dentro da casa de vegetação.

A substância húmica (SH) foi extraída, segundo a metodologia adaptada de Mendonça e Matos (2005), de composto orgânico proveniente do rúmen de bovinos. Em síntese, 10 ml de KOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> foram misturados com 1,0 g do composto orgânico. Após uma hora de agitação e 24 horas de repouso, o material foi centrifugado (3.000 g, 20 min) e retirado o sobrenadante. O processo foi então repetido, adicionando 10 ml de KOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> ao composto, sendo feita agitação manual e mantido em repouso por uma hora. Transcorrido o tempo, o material foi centrifugado (3.000 g, 20 min) e o sobrenadante adicionado junto ao extraído na primeira etapa. A SH extraída foi caracterizada quantitativamente contendo 27 g kg<sup>-1</sup> de carbono orgânico e 10 g kg<sup>-1</sup> de nitrogênio total.

## **2.2 Design experimental e tratamentos**

Para determinar os efeitos de fontes e doses de bioestimulantes, o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os 21 tratamentos foram obtidos no esquema fatorial 5x4+1, compreendendo a combinação de cinco bioestimulantes à base de substância húmica e aminoácido (Substância húmica, Glicina, Prolina, Substância húmica+Glicina e Substância húmica+Prolina) em quatro doses cada (2; 4; 6 e 8; L ha<sup>-1</sup>), mais um tratamento adicional (testemunha), composta pela ausência da aplicação de bioestimulante.

A concentração adotada de Prolina e Glicina foi de 10 g L<sup>-1</sup> com base em resultados de experimentos anteriores (dados não publicados). Nos tratamentos que foram utilizado somente os aminoácidos, as doses de aplicação foram mantidas, no entanto foi utilizado água destilada em substituição à substância húmica.

Os tratamentos foram aplicados via foliar, com volume de calda de 0,2 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>, logo após o corte de uniformização (48 dias após semeadura) e o primeiro corte de avaliação (78

dias após sementeira), fornecidos com auxílio de um pulverizador manual. O experimento foi conduzido em estufa durante 108 dias, realizando dois cortes (78 e 108 DAE) na altura de 30 cm do solo para avaliação das plantas, sendo utilizado os dados do segundo corte de avaliação (108 DAE).

### 2.3 Mensurações no capim Mombaça

As características morfológicas avaliadas foram: Altura de Plantas (AP) - obtido medindo-se o comprimento entre a superfície do solo até a extremidade mais alta das folhas, utilizando-se uma trena graduada em cm; Número de Perfílios (NP) - determinado pela contagem direta, apresentado em número de perfílios  $m^{-2}$  e; Área foliar (AF –  $m^2 \text{ vaso}^{-1}$ ) - foram destacados os discos das folha apenas com nervuras finas tomando o cuidado para não coletar sobre a nervura principal. As folhas e os discos foram secos em estufa e pesados em balança analítica (0,0001g). A área foliar foi estimada pela fórmula ( $AF = PS \times AD/PD$ , onde: AF é a área foliar estimada; PS é a peso seco da folha; AD é a área conhecida do disco retirado da folha ( $0,278 \text{ cm}^2$ ); e PD é peso seco dos discos).

A matéria natural da parte aérea (MNPA –  $g \text{ vaso}^{-1}$ ) foi obtida logo após a coleta e o material pesado em balança semi-analítica (0,01g). Para determinar a produção da forragem foi avaliado a massa seca da parte aérea (MSPA –  $g \text{ vaso}^{-1}$ ), obtida através da secagem desse material em estufa ventilada a  $65^\circ\text{C}$  por 72 horas, após isso o material foi pesado em balança analítica (0,0001g) (CARNEIRO et al., 2017).

A atividade fotossintética foi avaliada com IRGA (InfraRed Gas Analyzer – analisador de gases no infravermelho), modelo LCiSD (ADC System®) em folhas do terço médio das plantas, definidas antes de cada corte e aplicação dos tratamentos, sendo realizada no dia anterior dos cortes de avaliação do experimento, no período da manhã entre 8 e 10 horas. Em cada repetição foram feitas quatro leituras com o IRGA e as variáveis fisiológicas analisadas foram: taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), taxa transpiratória ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e concentração de  $\text{CO}_2$  intercelular ( $C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$ ).

Além disso, a eficiência do uso da água (EUA,  $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$ ) foi calculada pela razão  $A/E$ .; já a eficiência instantânea de carboxilação da enzima ribulose 1, 5-difosfato carboxilase (Rubisco) foi calculada pela relação da taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  e concentração interna de  $\text{CO}_2$  na folha ( $A/C_i$ ) (EIC,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} (\text{mol ar})^{-1}$ ), ambas conforme descrito por Zhang et al. (2001).

Para determinação do teor de Nitrogênio foliar foi realizada a coleta de 30 folhas recém-formadas de toda parte da planta por unidade experimental (vaso) (RIBEIRO et al., 1999). As folhas foram imediatamente lavadas com solução com detergente neutro 0,1% (1 mL de detergente em 1 L de água destilada). Após, utilizou-se água destilada para eliminar a solução detergente aplicada e o excesso de umidade foi removido com algodão seco. O procedimento tem por finalidade reduzir a contaminação das amostras provenientes da adubação foliar e aplicações dos defensivos agrícolas. Na sequência, as folhas foram secas em estufa de ar forçado por 72 horas, à temperatura de 65 °C e trituradas em moinho de facas tipo Willey (Star FT 50, Fortinox®).

O teor de proteína bruta (%) equivale ao conteúdo total de nitrogênio (N) no material analisado multiplicado pelo fator de correção igual a 6,25. Este processo considera todo nitrogênio do alimento na forma protéica. Para isso, as amostras foliares foram submetidas ao método de decomposição por via úmida, utilizando-se ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e os teores N total obtidos pelo método Kjeldahl (BREMNER e MULVANEY, 1982).

#### **2.4 Análise Estatística**

Procedeu-se a análise dos dados de maneira distinta. A avaliação dos tratamentos com bioestimulantes foi comparada ao tratamento adicional por meio de teste de média (Tukey,  $p \leq 0,05$ ) com o auxílio do softwares estatístico *R*. Os dados obtidos dos tratamentos com bioestimulantes foram submetidos à análise de variância e regressão utilizando o software SISVAR 5.6. Os modelos de regressão foram escolhidos com base na significância dos coeficientes da equação de regressão e coeficiente de determinação, usando 1 e 5% de probabilidade sendo plotados através do programa Sigma Plot 10®. O efeito significativo das fontes foi analisado pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

### 3. RESULTADOS

A aplicação de substâncias húmicas e aminoácidos em *Megathyrsus maximus* Jacq. cv. Mombaça promoveu alterações no desenvolvimento das plantas, conforme é apresentado pela análise de variância dos dados avaliados (Tabela 2). Nota-se que houve interação significativa entre as fontes e doses de bioestimulantes para as características altura de plantas (AP), área foliar (AF), massa seca da parte aérea (MSPA), matéria natural da parte aérea (MNPA), número de perfilhos (NP), taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (A), condutância estomática (g<sub>s</sub>), concentração de CO<sub>2</sub> intercelular (C<sub>i</sub>) e proteína bruta (PB). Por outro lado, a eficiência do uso da água (EUA) e eficiência instantânea de carboxilação (EIC) foi influenciada de maneira isolada, tanto pelas doses quanto pelas fontes, não havendo interação. Já a taxa transpiratória (E) teve influência somente de doses.

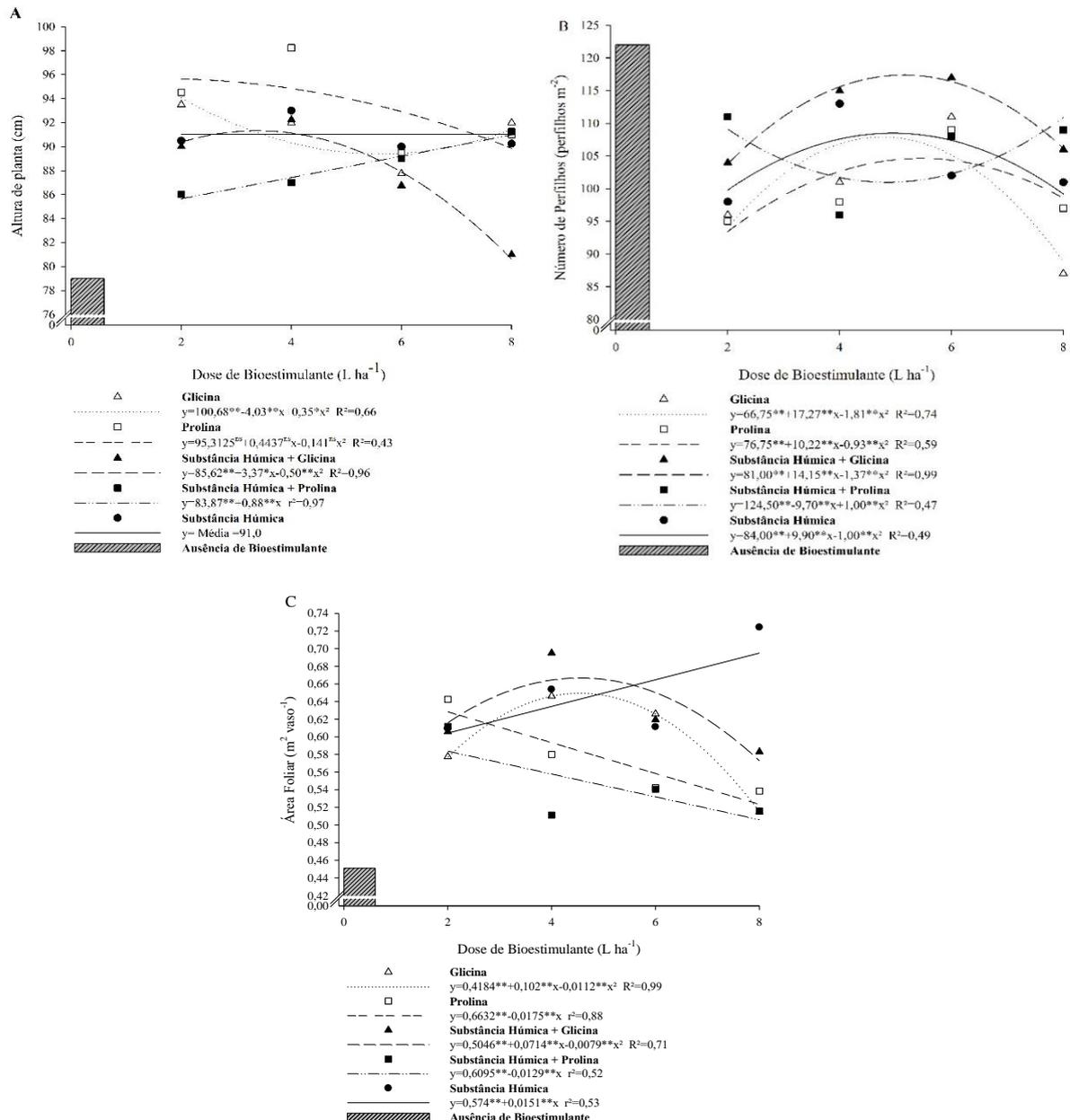
**Tabela 2:** Análise de variância referentes às variáveis estudadas em plantas de capim *Megathyrsus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes. Gurupi-TO, 2019.

Variável	Fontes de Variação - Q.M.					Média Geral	C.V. (%)
	Fonte (F)	Dose (D)	F x D	Add x Fat	Resíduo		
	Graus de Liberdade						
	3	4	12	1	63		
AP	89,10**	63,50**	36,70**	484,28**	6,30	90,30	2,70
AF	0,028**	0,0075**	0,011**	0,081**	0,001	0,60	5,20
MSPA	7,650**	4,950**	7,545**	135,65**	1,27	29,30	3,80
MNPA	63,42**	94,05**	79,45**	2203,3**	4,413	70,50	2,90
NP	366,7**	369,3**	178,1**	1275,8**	31,70	103,70	5,40
A	20,10**	4,70*	4,00**	2,02 <sup>ns</sup>	1,60	7,50	17,20
E	0,080 <sup>ns</sup>	0,42**	0,180 <sup>ns</sup>	0,51*	0,10	1,53	21,30
g <sub>s</sub>	0,001**	0,0004 <sup>ns</sup>	0,0003*	0,00016 <sup>ns</sup>	0,0002	0,06	24,40
C <sub>i</sub>	8701,6**	7532,0**	1807,7**	9273,3**	758,2	171,5	16,20
EUA	3,50**	3,20**	0,80 <sup>ns</sup>	3,30*	0,59	5,00	15,30
EIC	0,001**	0,002**	0,0004 <sup>ns</sup>	0,0011 <sup>ns</sup>	0,00031	0,05	37,50
PB	12,70**	8,10**	4,00**	6,20**	0,37	7,70	8,40

Altura de Planta (AP), Área Foliar (AF), Massa Seca da Parte Aérea (MSPA), Matéria Natural da Parte Aérea (MNPA), Número de Perfilhos (NP), Taxa de Assimilação de CO<sub>2</sub> (A), Taxa Transpiratória (E), Condutância Estomática (g<sub>s</sub>), Concentração de CO<sub>2</sub> intercelular (C<sub>i</sub>), Eficiência do Uso da Água (EUA), Eficiência Instantânea de Carboxilação (EIC) e Proteína Bruta (PB). Add x Fat.: Adicional x Fatorial (Correspondente à: Ausência de bioestimulantes x Aplicação de bioestimulantes); Q.M.: Quadrado Médio; C.V.: Coeficiente de Variação. \*\*: significativo ao nível 1% de probabilidade (p<0,01); \*: significativo ao nível de 5% de probabilidade (0,01 ≤ p < 0,05); ns: não significativo (p>0,05) pelo teste F.

Agrupando-se os resultados de todos tratamentos que receberam aplicação de bioestimulantes (fatorial) e comparando-os com a ausência de bioestimulante (adicional) observa-se que houve diferença significativa, exceto para A, g<sub>s</sub> e EIC (Tabela 2).

Na avaliação das variáveis em que houve interação significativa entre fontes e doses, o aumento da concentração promoveu diferentes respostas nas plantas. De modo geral, a altura das plantas foram incrementada pela aplicação dos bioestimulantes, independentemente da fonte e dose aplicada (Figura 1A). A máxima altura (95,7 cm) foi obtida com Prolina na dose estimada de 1,6 L ha<sup>-1</sup>, resultando em plantas até 17 cm mais altas quando comparadas à testemunha.

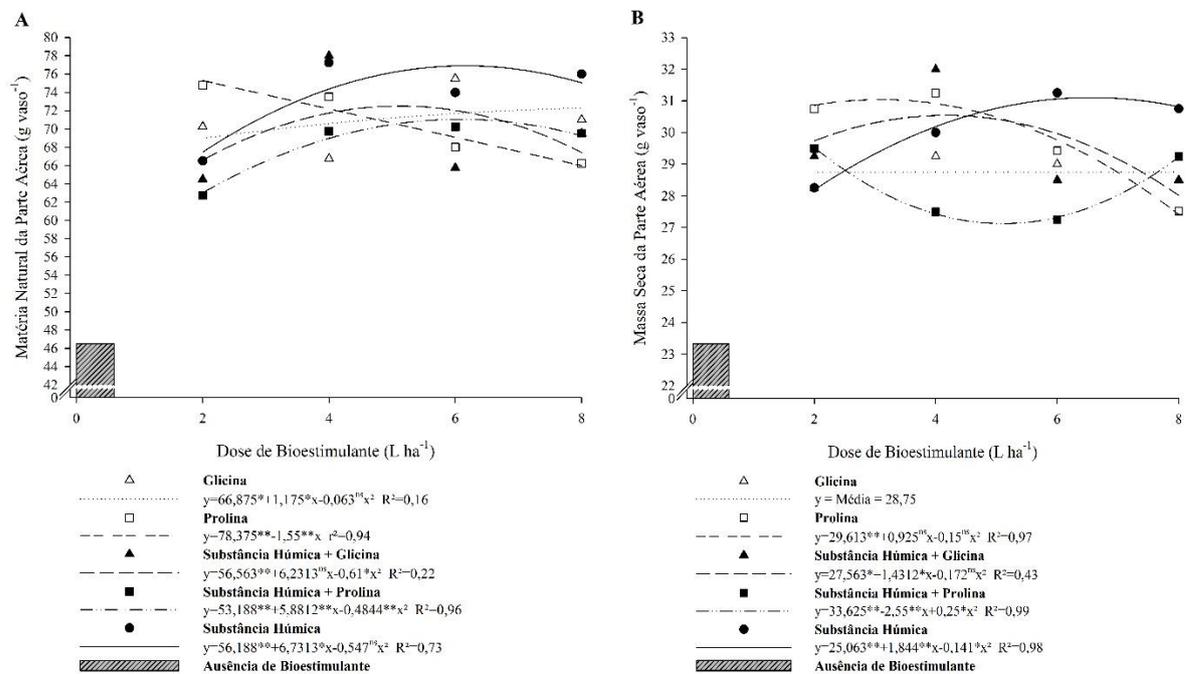


**Figura 1:** Altura de planta (A), número de perfilhos (B) e área foliar (C) de plantas de capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes. Gurupi-TO, 2019.

Já para o perfilhamento das plantas, foi observado aumento nessa variável com a aplicação de bioestimulantes até a dose média estimada de  $5,1 \text{ L ha}^{-1}$ , exceto para Substância Húmica+Prolina (Figura 1B). Apesar disso, o maior número de perfilhos foi obtido com o tratamento testemunha, superando a aplicação de bioestimulantes em aproximadamente cinco perfilhos  $\text{m}^{-2}$ .

Quanto à AF do capim Mombaça a aplicação dos bioestimulantes promoveu respostas variadas, sendo todas as fontes e doses superiores à testemunha (Figura 1C). O melhor resultado foi com  $8 \text{ L ha}^{-1}$  de Substância Húmica, contribuindo para a produção de uma superfície foliar aproximada de  $0,70 \text{ m}^2 \text{ vaso}^{-1}$ , o que representa acréscimo de 55% comparado à ausência de bioestimulantes.

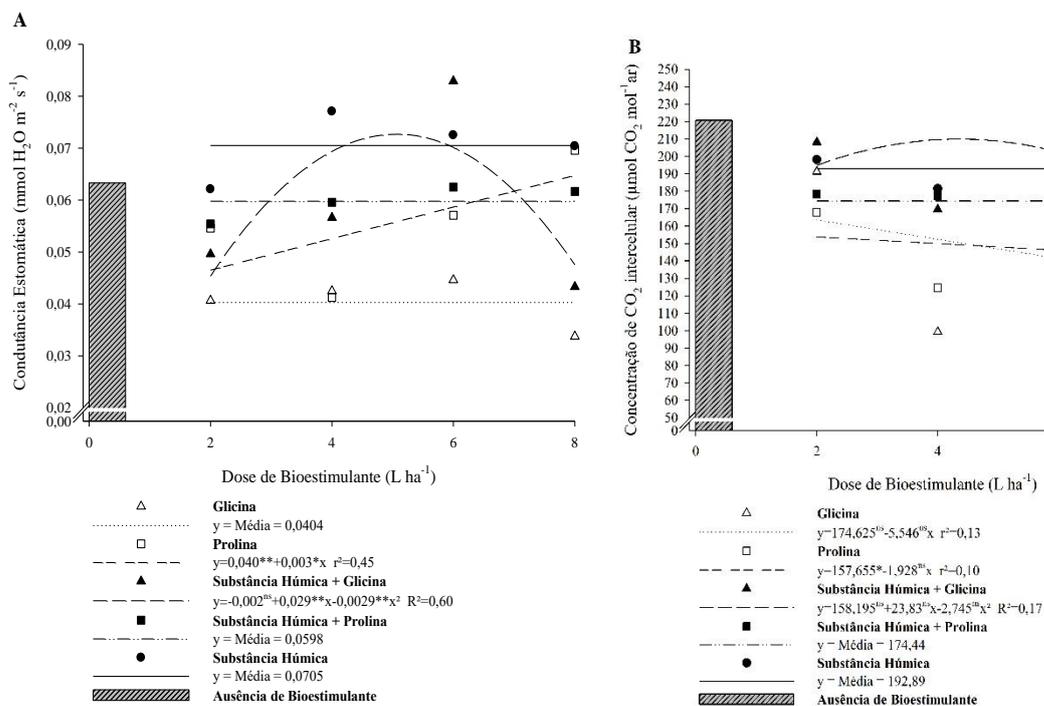
A produção de MNPA do capim Mombaça foi influenciada de maneira distinta pelos bioestimulantes em função do aumento da dose (Figura 2A). Embora todas as fontes promoveram aumento na MNPA, os melhores resultados foram com Substância Húmica e Prolina nas doses  $6,2$  e  $2,0 \text{ L ha}^{-1}$ , respectivamente. Nessas concentrações, a produção média de  $76 \text{ g vaso}^{-1}$  de matéria natural produzida foi incrementada em 64% em relação às plantas que não receberam bioestimulantes.



**Figura 2:** Matéria natural (A) e massa seca da parte aérea (B) de plantas de capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes. Gurupi-TO, 2019.

O aumento da dose de bioestimulantes promoveu efeitos na massa seca da parte aérea (MSPA) semelhantes aos observados na MNPA (Figura 2B). Apesar das alterações nos ajustes dos modelos matemáticos, as fontes Substância Húmica e Prolina aplicadas na ordem de 6,5 e 3,1 L ha<sup>-1</sup>, respectivamente, proporcionaram ganho médio de 31,1 g vaso<sup>-1</sup> de matéria seca quando comparadas à testemunha, o que corresponde à um acréscimo de 33% na produtividade de capim Mombaça.

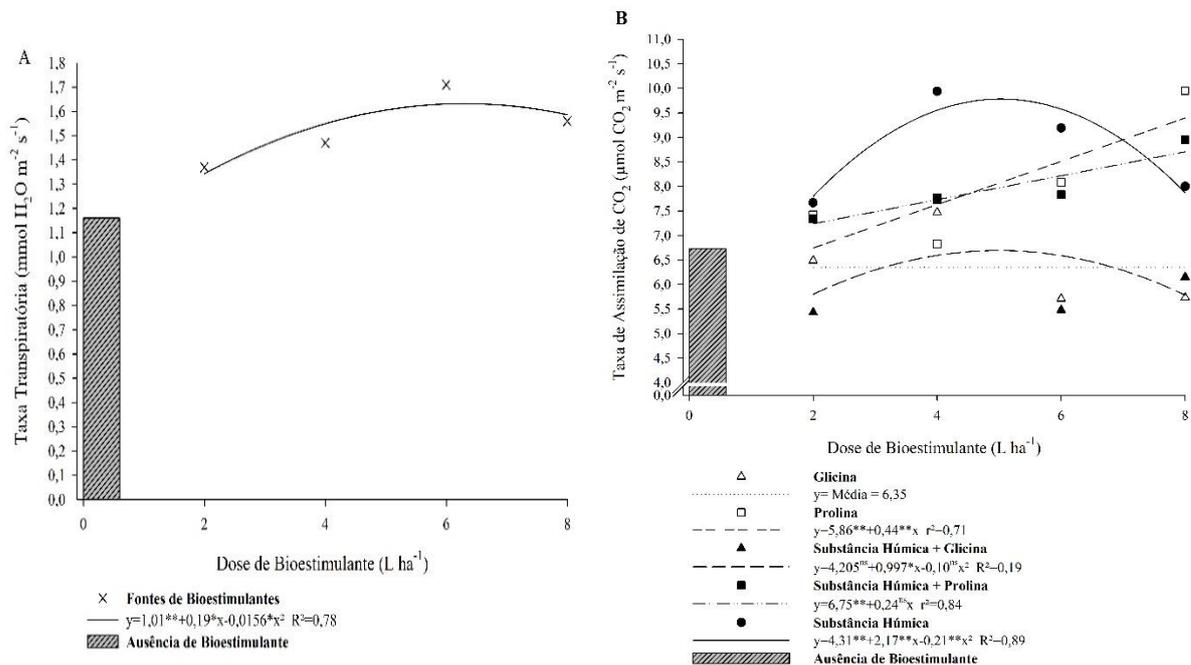
Quanto a  $g_s$ , foi observado aumento de 15,3% e 11,4% nas plantas sob a aplicação de Substância Húmica+Glicina e Substância Húmica, respectivamente (Figura 3A). Contudo, comparada à testemunha, a aplicação de Glicina, Prolina e Substância Húmica+Prolina em doses crescentes promoveu o fechamento parcial dos estômatos em média 0,0086 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.



**Figura 3:** Condutância estomática (A) e concentração de CO<sub>2</sub> intercelular (B) em plantas de capim *Megathyrsus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulante. Gurupi-TO, 2019.

Em relação ao  $C_i$ , o seu conteúdo nas plantas foi reduzido com a aplicação dos bioestimulantes (Figura 3B). O melhor resultado ocorreu sob o tratamento testemunha, com acúmulo de 220,8 μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> ar, que confere acréscimo aproximado de 11,3 μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> ar, quando comparado às outras fontes.

Independentemente do bioestimulante, as doses influenciaram na taxa transpiratória, mostrando-se superiores à testemunha logo a partir da 2,0 L ha<sup>-1</sup> (Figura 4A). Assim, a aplicação de 6,1 L ha<sup>-1</sup> promoveu o máximo de 1,589 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> elevando a transpiração em aproximadamente 27%. Já a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> variou em função da interação entre os bioestimulantes e as doses aplicadas, em que a taxa máxima de 9,78 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> foi com a fonte SH na dose estimada de 5,02 L ha<sup>-1</sup> (Figura 4B). Este resultado indica que houve A pelo capim Mombaça 45% maior que nas plantas testemunha (6,73 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).



**Figura 4:** Taxa transpiratória (A) e taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (B) em plantas de capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes. Gurupi-TO, 2019.

De maneira específica, os bioestimulantes contribuíram para as mudanças observadas nas plantas de capim Mombaça quanto à eficiência do uso da água e eficiência instantânea de carboxilação da enzima Rubisco (Tabela 3). O uso de SH foi significativamente maior, com EUA, aproximadamente, 1,2 vezes superior à média verificada para os demais produtos, no entanto, não diferiu estatisticamente do tratamento que não recebeu aplicação de bioestimulante.

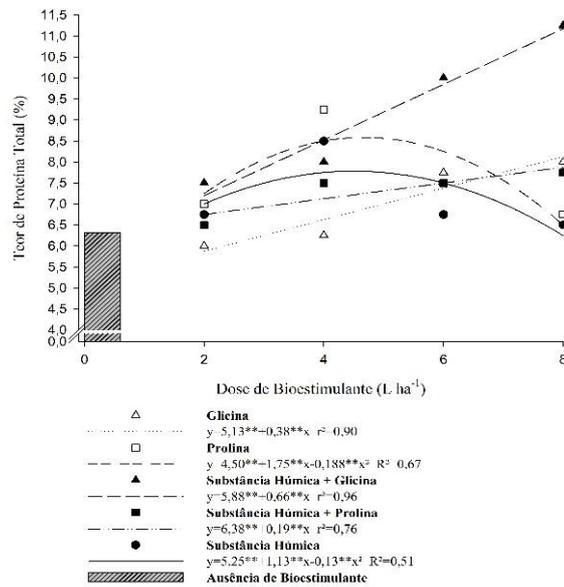
**Tabela 3:** Eficiência do Uso da Água (EUA) e Eficiência Instantânea de Carboxilação (EIC) em plantas de capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes. Gurupi-TO, 2019.

Bioestimulante	EUA	EIC
Glicina	4,69 bc	0,0495 ab
Prolina	4,91 abc	0,0626 a

Substância Húmica + Glicina	4,41 c	0,0346 b
Substância Húmica + Prolina	5,24 abc	0,0471 ab
Substância Húmica	5,63 ab	0,0458 ab
Ausência de Bioestimulante	5,91 a	0,0310 b

Médias seguidas de mesma letra não diferenciam entre si na coluna, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

Quanto a EIC, notou-se que, exceto Substância Húmica+Glicina, todos para bioestimulantes promoveram maior eficiência nessa enzima, com melhoria média de 65% quando comparada à ausência de bioestimulante (Tabela 3).



**Figura 5:** Teor de proteína bruta de plantas de capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes. Gurupi-TO, 2019.

Por fim, foi observado que os bioestimulantes melhoraram o teor de PT da forrageira em média 29% (Figura 5). O maior resultado foi com Substância Húmica+Glicina na dose de 8,0 L ha<sup>-1</sup>, que promoveu 1,7 vezes mais acúmulo de proteína nas plantas, quando comparadas que não receberam aplicação de bioestimulantes.

#### 4. DISCUSSÃO

As pastagens são um dos principais componentes da cadeia produtiva pecuária, e portanto, fator essencial na economia brasileira. Neste trabalho investigamos a produção, teor de proteína e alterações fisiológicas em capim Mombaça em função da aplicação de fontes e doses de bioestimulantes à base de substâncias húmicas e aminoácidos.

Dentro do contexto produtivo dessa forrageira, a variável massa seca e matéria natural da parte aérea tem maior importância, pois indica diretamente a quantidade de alimento disponível para o animal. Sendo assim, notou-se que aplicação dos bioestimulantes aumentou a produção do capim Mombaça, principalmente com Substância Húmica e Prolina em doses estimadas de 6,5 e 3,1 L ha<sup>-1</sup>, respectivamente, promovendo incremento médio de 33% de massa seca da parte aérea, quando comparado com a ausência de bioestimulantes.

O bioestimulante à base de ácidos húmicos (AH) em forragem foi testado por Pinheiro et al. (2018), em que observaram que a aplicação de AH na dose de 60 mg L<sup>-1</sup> de C, quinze dias após a emergência promoveu aumento na altura das plantas e na massa de *Brachiaria decumbens*. Os autores correlacionaram os efeitos positivos das aplicações do bioestimulante no capim aos efeitos dos ácidos húmicos em melhorar crescimento radicular e a possível maior absorção de nutrientes.

No presente trabalho, observou-se que as principais características morfológicas que determinam a produção de massa da parte aérea são altura de plantas e área foliar. Nesse sentido, a aplicação de Substância Húmica, Prolina e Substância Húmica+Glicina promove aumento na área foliar de aproximadamente 55% do capim mombaça, em relação à ausência de bioestimulante e incrementa em média 15 cm a altura de plantas, com aplicação dessas fontes.

Já no perfilhamento os melhores resultados foram observados na testemunha, com o incremento mínimo de cinco perfilhos m<sup>-2</sup> em relação aos tratamentos com bioestimulantes. Segundo Hodgson (1990) o perfilho é a unidade básica vegetativa das gramíneas, no entanto, como foi observado neste estudo, o número de perfilhos não foi um parâmetro decisivo para o aumento de produtividade. O que deve-se levar em consideração em perfilhamento de forragens não é somente a quantidade, mas também o desenvolvimento das folhas, conferindo a massa individual dos perfilhos (ROSADO et al., 2016).

Quanto ao teor de proteína da forragem, os bioestimulantes (exceto Glicina) promoveram melhorias, chegando à 11,5% na dose máxima aplicada (8 L ha<sup>-1</sup>) de Substância Húmica+Glicina. Entretanto, levando em consideração as fontes com maior produção de massa seca (Substância Húmica e Prolina), o teor médio de proteína foi de 8,14%, sendo o valor 1,29

vezes maior que a testemunha. O resultado em proteína é obtido através de determinações do teor de nitrogênio, logo é possível afirmar que quanto maior a proteína maior foi o acúmulo de nitrogênio. Trabalhando com alface, Silva et al. (2019) observaram maior desenvolvimento, qualidade de mudas e absorção de nitrogênio (determinante no teor de proteína) sob a aplicação de bioestimulantes à base de aminoácidos e SH, corroborando com os resultados desta pesquisa.

Assim, apesar de ainda não estarem totalmente esclarecidos, os mecanismos de ação das substâncias húmicas e aminoácidos podem explicar esses ganhos na produção e qualidade do capim Mombaça. A maioria dos efeitos bioestimulantes das SH refere-se à alterações na arquitetura radicular e melhoria da nutrição da planta, através de diferentes mecanismos. Nesse sentido, as SH estimulam a bomba de prótons  $H^+ATPase$  da membrana plasmática, que convertem a energia livre liberada pela hidrólise do ATP em um potencial eletroquímico transmembrana utilizado para a importação de nitrato e outros nutrientes (DU JARDIN et al., 2015).

Mais especificamente, Zandonadi et al. (2010) mostraram que a estimulação envolve atividade tipo auxínica da substância húmica e a sinalização do óxido nítrico. O resultado cumulativo é que a planta absorve mais nitrato. Além da absorção de nutrientes, o bombeamento de prótons pelas ATPases da membrana plasmática também contribui para o afrouxamento da parede celular, aumento da célula e de órgãos, resultando em maior crescimento vegetativo (JINDO et al., 2012).

Os aminoácidos também possuem ação estimulante em plantas, principalmente no metabolismo de carbono e nitrogênio, e regulam a absorção de N mediada por enzimas chave envolvidas no processo de assimilação de Nitrogênio como, citrato sintase, isocitrato desidrogenase e malato desidrogenase, envolvidas no ciclo do ácido tricarbóxico (COLLA et al., 2015; DU JARDIN, 2015; NARDI et al., 2016). Em outra gramínea (milho), cultivada em solução completa de Hoagland, os aminoácidos derivado de hidrolisado de proteínas de alfafa promoveu efeito significativo nas enzimas associadas à assimilação de  $NO_3^-$  (SCHIAVON et al., 2008).

Possivelmente, os mecanismos de ação das substâncias húmicas e aminoácidos em promover maior capacidade de absorção de nitrato e o aumento na plasticidade e expansão celular influenciaram no teor de proteína (composto nitrogenado), produção de massa e altura da parte aérea do capim Mombaça, sendo também eficientes quando utilizados de forma combinada. Os bioestimulantes apresentam múltiplos modos de ação, que podem ser aditivos e/ou sinérgicos, de modo que os resultados são dependentes da composição desses produtos

(DU JARDIN, 2015). De fato, houve efeito aditivo/sinérgico com uso combinado de Substância Húmica+Glicina, principalmente na expansão do limbo foliar.

Além disso, as mudanças nas variáveis morfológicas e produtivas de capim Mombaça tratado com bioestimulantes sugerem alguma relação com os efeitos fisiológicos (trocas gasosas), que podem explicar, em parte, o mecanismo dessas alterações. Nesse sentido, a condutância estomática, transpiração, a eficiência instantânea de carboxilação e a assimilação de CO<sub>2</sub> foram incrementadas, indicando que as alterações internas nas plantas de capim se associam mais com os resultados de massa da parte aérea e teor de proteína neste trabalho.

Houve aumento médio de 13,4% na condutância estomática das plantas tratadas com substância húmica e substância húmica+Glicina. A taxa transpiratória aumentou 37% na dose de 6,1 L ha<sup>-1</sup>, independentemente da fonte utilizada. Já a eficiência instantânea de carboxilação não sofreu efeito das doses sendo todas as fontes de bioestimulantes, exceto Substância Húmica+Glicina, superiores 65% quando comparada à testemunha. Quanto à assimilação de CO<sub>2</sub> a aplicação de substância húmica incrementou a assimilação de CO<sub>2</sub> em 45%.

Além de melhorar a taxa assimilatória, as plantas com substância húmica apresentaram maior expansão na área foliar (Figura 1C). Assim, levando em consideração de forma combinada os ganhos pela taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> e área foliar do capim é possível estimar que a aplicação do bioestimulante à base de substância húmica promove de assimilação de CO<sub>2</sub>, aproximadamente, 1,85 vezes maior que as plantas que não receberam os tratamentos.

O processos fisiológicos são dinâmicos e na medida do ciclo de desenvolvimento das plantas essas características não só influenciam, mas são influenciadas pelos parâmetros de produção, como por exemplo área foliar e teor de proteína. O aumento na área foliar após a aplicação dos bioestimulantes pode ter influenciado o comportamento da taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> e a taxa transpiratória, assim como o teor de proteína podem ter alterado a assimilação de CO<sub>2</sub> (A).

Além disso, em casos de aumento de síntese e reciclagem de aminoácidos ocorre estímulo de várias enzimas da via de assimilação de nitrato - redução de nitrato e conversão de amônio-amina – e enzimas envolvidas no ciclo de Krebs. Analisando conjuntamente, os dados fornecem suporte à hipótese de que a aplicação exógena de bioestimulante tem a capacidade de aumentar a eficiência de uso de nitrogênio da planta. Isso, por sua vez, proporciona um estímulo geral à fotossíntese (assimilação de CO<sub>2</sub>) e ao crescimento das plantas, como foi observado nas plantas de capim Mombaça (DU JARDIN, 2012).

Portanto, a aplicação foliar de fontes e doses dos bioestimulantes influenciou integralmente nas variáveis do capim Mombaça, melhorando, em geral, a produção,

características fisiológicas e o teor de proteína da forragem. Contudo, ressalta-se a necessidade de mais pesquisas que investiguem além dos aspectos observados e correlacionados neste estudo, visando orientar quanto ao uso desses produtos em forragens cultivadas, apresentando os efeitos promovidos nas plantas e suas vantagens para a agropecuária brasileira.

## 5. CONCLUSÕES

A aplicação dos bioestimulantes à base de substância húmica e aminoácidos aumentam a produção de massa e teor de proteína do capim Mombaça e alteram a morfologia e fisiologia, principalmente, altura de plantas, área foliar, condutância estomática, taxa transpiratória, eficiência instantânea de carboxilação e a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>.

As fontes Substância Húmica e Prolina, nas doses de 6,5 e 3,1 L ha<sup>-1</sup>, respectivamente, foram as mais eficientes, aumentando em média 33% a produção de massa seca da parte aérea e 21% o teor de proteína do capim Mombaça.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Pecuária Brasileira. Disponível em: <[http://www.abiec.com.br/3\\_pecuaria.asp](http://www.abiec.com.br/3_pecuaria.asp)> Acesso em: 02 de Janeiro de 2017.

ANJUM, S. A.; WANG, L.; FAROOQ, M.; XUE, L.; ALI, S. Fulvic acid application improves the maize performance under well watered and drought conditions. *Journal of Agronomy and Crop Science*, v. 197, p. 409–417, 2011.

AYDIN, A.; KANT, C.; TURAN, M. Humic acid application alleviate salinity stress of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants decreasing membrane leakage. *African Journal of Agricultural Research*, v. 7, p. 1073–1086, 2012.

BREMNER, J. M.; MULVANEY, C. S. Nitrogen total. In: Page, A.L. (ed.) *Methods of soil analysis. Part 2*. Madison: American Society of Agronomy, 1982. p. 595-624.

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, v. 383, p. 3–41, 2014.

CARNEIRO, J. S. S.; SILVA, P. S. S.; SANTOS, A. C. M.; FREITAS, G. A.; SILVA, R. R. Resposta do capim mombaça sob efeito de fontes e doses de fósforo na adubação de formação. *Journal of Bioenergy and Food Science*. v. 4, p. 12-25, 2017.

CHEN, Y.; CLAPP, C. E.; MAGEN, H. Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: the role of organo-iron complexes. *Soil Science and Plant Nutrition*, v. 50, p. 1089–1095, 2004.

COLLA, G., NARDI, S.; CARDARELLI, M.; ERTANI, A.; LUCINI, L.; CANAGUIER, R.; ROUPHAEL, Y. Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, v. 196, p. 28–38, 2015.

COLLA, G.; CARDARELLI, M.; BONINI, P.; ROUPHAEL, Y. Foliar applications of protein hydrolysate, plant and seaweed extracts increase yield but differentially modulate fruit quality of greenhouse tomato. *HortScience*, v. 52, p. 1214–1220, 2017.

CUNHA, R. C.; OLIVEIRA, F. D. A.; SOUZA, M. W. L.; MEDEIROS, J. F.; LIMA, L. A.; OLIVEIRA, M. K. T. Ação de bioestimulante no desenvolvimento inicial do milho doce submetido ao estresse salino. *Irriga*, v. 1, p. 191-204, 2016.

DIAS-FILHO, M. B. Diagnóstico das pastagens no Brasil. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Amazônia Oriental – (Documentos 402 / Embrapa Amazônia Oriental). Belém, PA: 2014. 36 p.

DIEESE, Departamento Intersindical de Estatística e Estudos Socioeconômicos. Estatísticas do meio rural 2010-2011. 4. ed. São Paulo: DIEESE; NEAD; MDA, 2011.

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

DU JARDIN, P. The Science of Plant Biostimulants—A bibliographic analysis. Adhoc Study Report to the European Commission DG ENTR. 2012; [http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/files/fertilizers/final\\_report\\_bio\\_2012en.pdf](http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/files/fertilizers/final_report_bio_2012en.pdf).

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

HODGSON, J. *Grazing management: science into practice*. New York: John Willey & Sons, 1990. 203p.

JINDO, K.; MARTIM, S. A.; NAVARRO, E. C.; AGUIAR, N. O.; CANELLAS, L. P. Root growth promotion by humic acids from composted and non-composted urban organic wastes. *Plant and Soil*, v. 353, p. 209–220, 2012.

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

MAZHAR, A. A. M.; SHEDEED, S. I.; ABDEL-AZIZ, N. G.; MAHGOUB, M. H. Growth, flowering and chemical constituents of *Chrysanthemum indicum* L. plant in response to different levels of humic acid and salinity. *Journal of Applied Sciences Research*, v. 8, p. 3697–3706, 2012.

MENDONÇA, E. S.; MATOS, E. S. *Matéria orgânica do solo: Métodos de análises*. Viçosa: UFV, 2005, 77p.

MURILLO, J. M.; MADEJÓN, E.; MADEJÓN, P.; CABRERA, F. The response of wild olive to the addition of a fulvic acid-rich amendment to soils polluted by trace elements (SW pain). *Journal of Arid Environments*, v. 63, p. 284–303, 2005.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; SCHIAVON, M.; ERTANI, A. Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Scientia Agricola*, v. 73, p. 18–23, 2016.

PINHEIRO, P. L.; PASSOS, R. R.; PEÇANHA, A. L.; CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. O.; MENDONÇA, E. S. Promoting the growth of *Brachiaria decumbens* by humic acids (HAs). *Australian Journal of Crop Science*, v. 12, p. 1114-1121, 2018.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V, V. H. Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5a aproximação. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999, 359p.

ROSADO, T. L.; GONTIJO, I.; ALMEIDA, M. S.; NETO, A. C.; SIMON, C. P. Production and tillering of mombaça grass with different sources and levels of applied nitrogen. *Engenharia na Agricultura*, v. 24, p. 139-146, 2016.

SCHIAVON, M.; ERTANI, A.; NARDI, S. Effects of an alfalfa protein hydrolysate on the gene expression and activity of enzymes of TCA cycle and N metabolism in *Zea mays* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 11800–11808, 2008.

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*, v. 36, p. 662–669, 2010.

SELIM, E. M.; SHAYMAA, I. S.; ASAAD, F. F.; EL-NEKLAWY, A. S. Interactive effects of humic acid and water stress on chlorophyll and mineral nutrient contents of potato plants. *Journal of Applied Sciences Research*, v. 8, p. 531–537, 2012.

SILVA, R. R.; SANTOS, A. C. M.; CARNEIRO, J. S. S.; MARQUES, L. C.; RODRIGUES, L. U.; FARIA, A. J. G.; FREITAS, G. A.; NASCIMENTO, V. L. Biostimulants based on humic acids, amino acids and vitamins increase growth and quality of lettuce seedlings. *Journal of Agricultural Science*, v. 11, p. 235-246, 2019.

TAHIR, M. M.; KHURSHID, M.; KHAN, M. Z.; ABBASI, M. K.; HAZMI, M. H. Lignite-derived humic acid effect on growth of wheat plants in different soils. *Pedosphere*, v. 2, p. 124–131, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 4º ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. Manual de métodos de análise de solo. EMBRAPA Solos, Brasília-DF, 3<sup>a</sup> ed., 2017, 573p.

USDA - United States Department of Agriculture. Livestock and poultry: world markets and trade. (Despite HPAI Outbreaks, Global Broiler Meat Production and Trade Forecast to Rise in 2017). Approved by the World Agricultural Outlook Board/USDA. Foreign Agricultural Service/USDA. Office of Global Analysis. April 2017. 28 p.

ZANDONADI, D. B.; SANTOS, M. P.; DOBBSS, L. B.; OLIVARES, F. L.; CANELLAS, L. P.; BINZEL, M. L.; OKOROKOVA-FAÇANHA, A.; FAÇANHA, A. R. Nitric oxide mediates humic acids induced root development and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activation. *Planta*, v. 231, p. 1025–1036, 2010.

ZHANG, S.; LI, Q.; MA, K.; CHEN, L. Temperature-dependent gas exchange and stomatal/non-stomatal limitation to CO<sub>2</sub> assimilation of *Quercus liaotungensis* under midday higher irradiance. *Photosynthetica*, v. 39, p. 383-388, 2001.

## CAPÍTULO II

### SUBSTÂNCIA HÚMICA E AMINOÁCIDOS ASSOCIADOS À ADUBAÇÃO NITROGENADA EM COBERTURA NA PRODUÇÃO, FISIOLOGIA E TEOR DE PROTEÍNA DO CAPIM MOMBAÇA

**RESUMO:** As forrageiras são importantes para a agropecuária brasileira, sendo fundamentais nos sistemas intensivos de exploração, onde a realização de adubações de cobertura nitrogenada frequentes, bem como a suplementação com substâncias bioestimulantes são estratégias para aprimorar a produtividade, fornecimento de nutrientes e viabilizar a intensificação de uso das pastagens. Assim, objetivou-se avaliar o efeito de bioestimulantes à base de substâncias húmicas e aminoácidos associados à adubação nitrogenada em cobertura na produção, fisiologia e teor de proteína de *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça. Para isso, um experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições no esquema fatorial 4x5+1, sendo o primeiro fator composto por cinco fontes de bioestimulantes (Substância Húmica, Glicina, Prolina, Substância Húmica+Glicina, Substância Húmica+Prolina) e o segundo quatro doses (2; 4; 6 e 8 L ha<sup>-1</sup>), mais um tratamento adicional (testemunha), composto apenas pela cobertura com N. Todos os 21 tratamentos receberam adubação de cobertura 100 kg ha<sup>-1</sup> de N, parcelado duas vezes após os primeiros cortes no capim 48 e 78 dias após a emergência. A aplicação de bioestimulantes aumentou a altura de plantas, produção de massa seca da parte aérea e teor de proteína em 8,0; 4,0 e 8,0%, respectivamente. Assim, o uso desses produtos, principalmente as fontes Substância Húmica, Substância Húmica+Prolina e Substância Húmica+Glicina, associados à adubação de cobertura nitrogenada alteraram os aspectos fisiológicos de concentração de CO<sub>2</sub> intercelular, condutância estomática e taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>, a morfologia das plantas e melhoram a produção de biomassa e teor de proteína do capim Mombaça.

**Palavras-chaves:** Bioestimulantes, *Megathyrus maximus*, forragem, nitrogênio.

### HUMIC SUBSTANCES AND AMINO ACIDS ASSOCIATED TO THE FERTILIZATION OF NITROGEN COVER IN THE PRODUCTION, PHYSIOLOGY AND PROTEIN CONTENT OF THE MOMBASA GRASS

**ABSTRACT:** Forage crops are important for brazilian agriculture, being fundamental in the intensive systems of exploration, where the realization of frequent nitrogen coverage fertilization, as well as the supplementation with biostimulant substances are strategies to improve productivity, nutrient supply and facilitate the intensification of pasture use. Thus, the objective was to evaluate the effect of biostimulants based on humic substances and amino acids associated with nitrogen fertilization in coverage in the production, physiology and protein content of *Megathyrus Maximus* Jacq. cv. Mombasa. For this, an experiment was conducted in a completely randomized design with four replications in the 4x5+1 factorial scheme, being the first factor consisting of five sources of biostimulants (Humic Substance, Glycine, Proline, Humic Substance+Glycine, Humic Substance+Proline) and the second four doses (2; 4; 6 and 8 L ha<sup>-1</sup>), plus an additional treatment (control), composed only by the coverage with N. All 21 treatments received 100 kg ha<sup>-1</sup> of N coverage fertilization, split twice after the first cuttings in 48 grass and 78 days after emergence. The application of biostimulants increased plant height,

aerial part dry mass production and protein content in 8.0, 4.0 and 8.0%, respectively. Thus, the use of these products, mainly the sources Humic Substance, Humic Substance+Proline and Humic Substance+Glycine, associated with nitrogen cover fertilization change the physiological aspects of intercellular CO<sub>2</sub> concentration, stomatal conductance and CO<sub>2</sub> assimilation rate, plant morphology and improved biomass production and protein content of Mombaça grass.

**Key-words:** Biostimulants, *Megathyrsus maximus*, forage, nitrogen.

## 1. INTRODUÇÃO

As pastagens constituem a base alimentar dos rebanhos no Brasil, sendo representadas, em sua maioria, pelo gênero *Brachiaria* (BORGES, 2015), embora a área cultivada com a forrageira venha sofrendo considerável redução nos últimos anos. Com isso, o capim *Megathyrsus maximus* cv. Mombaça tem sido introduzido em virtude da boa adaptação à climas tropicais e subtropicais, além do elevado rendimento (GOMES et al., 2011; CARNEIRO et al., 2017).

O aporte nutricional conferido pela prática de adubações de cobertura, de forma complementar à correção da acidez e elevação dos níveis de nutrientes do solo é uma estratégia usual para a verticalização da produtividade da forrageira. Assim, a reposição de nutrientes, principalmente o N, apresenta potencial de resposta em gramíneas tropicais em relação às aquelas de clima temperado (VIANA et al., 2011), sobretudo em condições de solos de baixa fertilidade natural, como os do Cerrado.

A influência do N no aumento da produção de matéria seca em capins tem sido evidenciada em razão, principalmente, do maior perfilhamento (ALEXANDRINO et al., 2004; SANTOS et al., 2009; ROMA et al., 2012). Segundo Faria et al. (2015), adubações de cobertura contendo N promovem aumento de até 27% na massa verde do capim Mombaça, bem como acréscimos na altura de plantas e número de perfilhos.

Outra alternativa com potencial de incrementar a produção dos cultivos é a utilização de bioestimulantes, definidos como substâncias e, ou microrganismos que, quando aplicados às plantas ou rizosfera, estimulam processos naturais para ampliar a absorção e eficiência do uso de nutrientes, a tolerância ao estresse abiótico e a qualidade das culturas (BROWN e SAA, 2015). Como principais fontes desses produtos destacam-se as substâncias húmicas (SHs) e os aminoácidos, por exemplo, glicina e prolina.

As SHs são os principais componentes da matéria orgânica e resultam da degradação química e, ou biológica dos resíduos. Esses compostos são capazes de promover alongamento celular, aumento das raízes e melhorias no processo fotossintético, que levam ao crescimento e desenvolvimento das plantas (CANELLAS e OLIVARES, 2014; SILVA et al., 2018). Além de alterar aspectos morfológicos e fisiológicos, as SHs têm efeito positivo na absorção de nutrientes, principalmente no aumento da captação de nitrato (NARDI et al., 2000; PICCOLO et al., 1992; QUAGGIOTTI et al., 2004). Nesse sentido, Ayuso et al. (1996) mostraram que SHs extraídas de diferentes materiais de origem podem melhorar a absorção de N total pela planta.

Já os aminoácidos são compostos nitrogenados importantes, dentro outros aspectos, para a síntese de proteínas, o aumento da tolerância à estresses, a melhora na eficiência nutricional e o maior desenvolvimento do sistema radicular (DARIO et al., 2014). De acordo Colla et al. (2014), alguns dos efeitos diretos sobre as plantas incluem a modulação da absorção e assimilação de N e regulação das enzimas e genes estruturais que atuam na via de sinalização de aquisição do nutriente nas raízes.

A aplicação exógena de aminoácidos promoveu maior estimulação de enzimas de assimilação de nitrato, tanto na parte aérea quanto na raiz de milho (SCHIAVON et al., 2008). Em alfaca Silva et al. (2019) observaram efeitos positivos no desenvolvimento das mudas e absorção de N com o uso combinado de SH, glicina e prolina. Contudo, são escassas pesquisas que demonstram resultados da utilização dessas substâncias em forrageiras, principalmente *Megathyrus maximus* cv. Mombaça, requerendo mais investigações. Assim, objetivou-se avaliar o efeito de bioestimulantes à base de substâncias húmicas e aminoácidos, associados à adubação nitrogenada em cobertura, na produção, fisiologia e teor de proteína de *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local e Preparação das unidades experimentais

O trabalho foi conduzido na área experimental da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus Universitário de Gurupi. A área está localizada nas coordenadas de 11°44'44,16" de latitude S e 49°03'04,17" de longitude W, a 280 m de altitude no sul do estado do Tocantins. O experimento foi realizado sob casa de vegetação com dimensões de 5,0 x 20,0 m de largura e comprimento respectivamente, e pé-direito de 2,80 m, com cobertura de plástico transparente de 150 micras. Foi testado o efeito de fontes e doses de bioestimulantes nas condições de cultivo com adubação de cobertura nitrogenada padrão.

As unidades experimentais foram constituídas por vasos plásticos perfurados na base com capacidade para 8,0 dm<sup>3</sup>, preenchidos com Latossolo Vermelho-Amarelo. Para isso, o solo foi seco ao ar, durante uma semana, destorroado, peneirado (malha de 2,0 mm) e submetido à caracterização química e textural, conforme metodologia recomendada por Texeira et al. (2017) (Tabela 1).

**Tabela 1:** Análise química e textural do solo utilizado no experimento de fontes e doses de bioestimulantes associados à adubação de cobertura nitrogenada em capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça. Gurupi-TO, 2019.

Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	K	P	M.O.	pH	Areia	Silte	Argila	V%
----- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----					mg dm <sup>-3</sup>		g dm <sup>-3</sup>		CaCl <sub>2</sub>	----- (g kg <sup>-1</sup> ) -----			
0,2	0,1	0	2,8	0,33	3,13	12	0,2	11	4,9	500	50	450	10

A calagem foi incorporada ao solo utilizando a fonte calcário dolomítico com a finalidade de elevar a saturação por bases para 60%, utilizando a dosagem calculada de 1,65 t ha<sup>-1</sup>, já corrigido para o poder relativo de neutralização total (PRNT) de 100%. O calcário misturado ao solo permaneceu em incubação por 30 dias. A recomendação da adubação para estabelecimento da cultura foi realizada segundo Ribeiro et al. (1999), a partir do resultado da análise do solo. Foi realizada adubação de estabelecimento da cultura com: Ureia como fonte de nitrogênio (50 kg ha<sup>-1</sup> de N), Superfosfato Simples como fonte de fósforo (90 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), Cloreto de potássio como fonte de potássio (40 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O). O fertilizante fonte de micronutrientes FTE BR12 foi aplicado em dose fixa de 120 kg ha<sup>-1</sup>, correspondendo à 2,16; 0,96; 2,4; 8,4 e 0,12 kg ha<sup>-1</sup> de Boro, Cobre, Manganês, Zinco e Molibdênio, respectivamente.

A forrageira utilizada foi o capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça. A quantidade de sementes foi determinada segundo o valor cultural (germinação %, pureza %,

VC -%) da semente. A semeadura foi realizada marcando-se um círculo distando 5 cm da lateral do vaso com 1,0 cm de profundidade.

Aos 10 dias após a emergência (DAE) das plantas foi realizado o primeiro desbaste, deixando-se cinco plantas bem distribuídas por vaso, o segundo desbaste foi realizado aos 20 DAE a, deixando-se apenas três plantas por vaso. Aos 48 DAE das plantas foi realizado o corte de uniformização, efetuando o corte a 30 cm de altura a partir da superfície do solo. Os tratos culturais foram realizados de acordo com a demanda da cultura. Semanalmente os vasos foram remanejados, mudando sua posição segundo um sorteio, de forma que não fossem influenciados por microclima dentro da casa de vegetação.

A substância húmica (SH) foi extraída, segundo a metodologia adaptada de Mendonça e Matos (2005), de composto orgânico proveniente do rúmen de bovinos. Em síntese, 10 ml de KOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> foram misturados com 1,0 g do composto orgânico. Após uma hora de agitação e 24 horas de repouso, o material foi centrifugado (3.000 g, 20 min) e retirado o sobrenadante. O processo foi então repetido, adicionando 10 ml de KOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> ao composto, sendo feita agitação manual e mantido em repouso por uma hora. Transcorrido o tempo, o material foi centrifugado (3.000 g, 20 min) e o sobrenadante adicionado junto ao extraído na primeira etapa. A SH extraída foi caracterizada quantitativamente contendo 27 g kg<sup>-1</sup> de carbono orgânico e 10 g kg<sup>-1</sup> de nitrogênio total.

## 2.2 Design experimental e tratamentos

Para determinar o efeito de fontes e doses de bioestimulantes dos tratamentos foram submetidos à condição de cultivo *com cobertura de 100 kg ha<sup>-1</sup> de N* (RIBEIRO et al., 1999), parcelado duas vezes após os primeiros cortes no capim (48 e 78 DAE). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em que os 21 tratamentos foram obtidos no esquema fatorial 5x4+1, compreendendo a combinação de cinco bioestimulantes à base de substância húmica e aminoácido (Substância húmica, Glicina, Prolina, Substância húmica+Glicina e Substância húmica+Prolina) em quatro doses cada (2; 4; 6 e 8 L ha<sup>-1</sup>), mais um tratamento adicional (testemunha), composto somente pela adubação de cobertura nitrogenada.

A concentração adotada de Prolina e Glicina foi de 10 g L<sup>-1</sup> com base em resultados de experimentos anteriores (dados não publicados). Nos tratamentos que foram utilizado somente os aminoácidos as doses de aplicação foram mantidas, no entanto foi utilizado água destilada em substituição à substância húmica.

Os tratamentos foram aplicados via foliar duas vezes, com volume de calda de  $0,2 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ , logo após o corte de uniformização (48 dias após sementeira) e o primeiro corte de avaliação (78 dias após sementeira), fornecidos com auxílio de pulverizador manual. O experimento foi conduzido em estufa durante 108 dias, sendo realizados dois cortes na altura de 30 cm do solo para avaliação das plantas, sendo o primeiro aos 78 DAS e o segundo 108 DAS. As variáveis avaliadas foram: produção da forragem, alterações morfológicas, fisiológicas e no teor de proteína da forragem, utilizando os dados do segundo corte de avaliação (108 DAS).

### 2.3 Mensurações no capim Mombaça

As características morfológicas avaliadas foram: Altura de Plantas (AP) - obtido medindo-se o comprimento entre a superfície do solo até a extremidade mais alta das folhas, utilizando-se uma trena graduada em cm; Número de Perfílios (NP) - determinado pela contagem direta, apresentado em número de perfílios  $\text{m}^{-2}$  e; Área foliar (AF –  $\text{m}^2 \text{ vaso}^{-1}$ ) - foram destacados os discos das folhas apenas com nervuras finas tomando o cuidado para não coletar sobre a nervura principal. As folhas e os discos foram secos em estufa e pesados em balança analítica (0,0001g). A área foliar foi estimada pela fórmula ( $AF = PS \times AD/PD$ , onde: AF é a área foliar estimada; PS é a peso seco da folha; AD é a área conhecida do disco retirado da folha ( $0,278 \text{ cm}^2$ ); e PD é peso seco dos discos).

A matéria natural da parte aérea (MNPA –  $\text{g vaso}^{-1}$ ) foi obtida logo após a coleta e o material pesado em balança semi-analítica (0,01g). Para determinar a produção da forragem foi avaliado a massa seca da parte aérea (MSPA –  $\text{g vaso}^{-1}$ ), obtida através da secagem desse material em estufa ventilada a  $65^\circ\text{C}$  por 72 horas, após isso o material foi pesado em balança analítica (0,0001g) (CARNEIRO et al., 2017).

A atividade fotossintética foi avaliada com IRGA (InfraRed Gas Analyzer – analisador de gases no infravermelho), modelo LCI<sub>SD</sub> (ADC System<sup>®</sup>) em folhas do terço médio das plantas, definidas antes de cada corte e aplicação dos tratamentos, sendo realizada no dia anterior dos cortes de avaliação do experimento, no período da manhã entre 8 e 10 horas. Em cada repetição foram feitas quatro leituras com o IRGA e as variáveis fisiológicas analisadas foram: taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), taxa transpiratória ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e concentração de  $\text{CO}_2$  intercelular ( $C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$ ). Além disso, a eficiência do uso da água (EUA,  $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$ ) foi determinada pela razão  $A/E$ , conforme descrito por Zhang et al. (2001).

Para determinação do teor de Nitrogênio foliar foi realizada a coleta de 30 folhas recém-formadas de toda parte da planta por unidade experimental (vaso) (RIBEIRO et al., 1999). As folhas foram imediatamente lavadas com solução com detergente neutro 0,1% (1 mL de detergente em 1 L de água destilada). Após, utilizou-se água destilada para eliminar a solução detergente aplicada e o excesso de umidade foi removido com algodão seco. O procedimento tem por finalidade reduzir a contaminação das amostras provenientes da adubação foliar e aplicações dos defensivos agrícolas. Na sequência, as folhas foram secas em estufa de ar forçado por 72 horas, à temperatura de 65 °C e trituradas em moinho de facas tipo Willey (Star FT 50, Fortinox<sup>®</sup>).

O teor de proteína bruta (%) equivale ao conteúdo total de nitrogênio (N) no material analisado multiplicado pelo fator de correção igual a 6,25. Este processo considera todo nitrogênio do alimento na forma protéica. Para isso, as amostras foliares foram submetidas ao método de decomposição por via úmida, utilizando-se ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e os teores N total obtidos pelo método Kjeldahl (BREMNER e MULVANEY, 1982).

#### **2.4 Análise Estatística**

Procedeu-se a análise dos dados de maneira distinta. A avaliação dos tratamentos com bioestimulantes foi comparada ao tratamento adicional por meio de teste de média (Tukey,  $p \leq 0,05$ ) com o auxílio do softwares estatístico *R*. Os dados obtidos dos tratamentos com bioestimulantes foram submetidos à análise de variância e regressão utilizando o software SISVAR 5.6. Os modelos de regressão foram escolhidos com base na significância dos coeficientes da equação de regressão e coeficiente de determinação, usando 1 e 5% de probabilidade sendo plotados através do programa Sigma Plot 10<sup>®</sup>. O efeito significativo das fontes foi analisado pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

### 3. RESULTADOS

Nas plantas de *Megathyrsus maximus* Jacq. cv. Mombaça foi observado que houve interação significativa entre as fontes e doses (FxD) de substâncias húmicas e aminoácidos para características de área foliar (AF), massa seca da parte aérea (MSPA), matéria natural da parte aérea (MNPA), número de perfilhos (NP), taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (A), taxa transpiratória (E), condutância estomática (g<sub>s</sub>), concentração de CO<sub>2</sub> intercelular (C<sub>i</sub>), eficiência do uso da água (EUA) e proteína bruta (PB) (Tabela 2). Por outro lado, não houve interação FxD para altura de plantas (AP) sendo a característica influenciada de maneira isolada tanto pelas doses quanto pelas fontes.

**Tabela 2:** Análise de variância referentes às variáveis estudadas em plantas de capim *Megathyrsus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes associados à adubação de cobertura nitrogenada. Gurupi-TO, 2019.

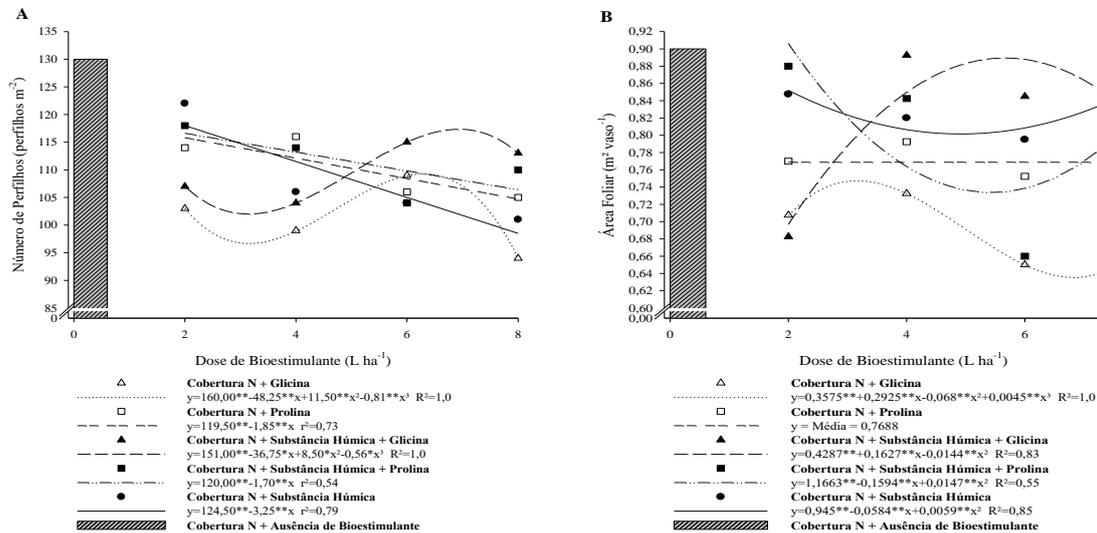
Variável	Fontes de Variação - Q.M.				Resíduo	Média Geral	C.V. (%)
	Fonte (F)	Dose (D)	F x D	Add x Fat			
	Graus de Liberdade						
	3	4	12	1			
AP	67,23**	55,70**	19,60 <sup>ns</sup>	89,10*	15,70	100,80	3,90
AF	0,050**	0,021**	0,015**	0,053**	0,001	0,78	4,00
MSPA	32,85**	8,91**	11,99**	7,26**	1,01	40,94	2,50
MNPA	528,70**	83,75**	147,47**	0,16 <sup>ns</sup>	8,15	126,06	2,30
NP	263,20**	230,90**	163,60**	1810,40**	36,80	108,20	5,40
A	11,40**	9,00*	8,50**	0,70 <sup>ns</sup>	2,90	8,10	21,40
E	4,30**	2,50**	0,98**	3,80**	0,15	2,10	19,30
g <sub>s</sub>	0,0007**	0,0008**	0,0006**	0,0001 <sup>ns</sup>	0,0001	0,04	31,40
C <sub>i</sub>	3683,40**	3203,00**	5762,00**	1261,30 <sup>ns</sup>	548,60	97,90	24,30
EUA	14,80**	2,50**	0,79*	56,10**	0,35	4,20	14,60
PB	14,50**	0,32 <sup>ns</sup>	5,70**	3,30 <sup>ns</sup>	1,75	14,10	9,80

Altura de Planta (AP), Área Foliar (AF), Massa Seca da Parte Aérea (MSPA), Matéria Natural da Parte Aérea (MNPA), Número de Perfilhos (NP), Taxa de Assimilação de CO<sub>2</sub> (A), Taxa Transpiratória (E), Condutância Estomática (g<sub>s</sub>), Concentração de CO<sub>2</sub> Intercelular (C<sub>i</sub>), Eficiência do Uso da Água (EUA) e Proteína Bruta (PB). Add x Fat.: Adicional x Fatorial (Correspondente à: Ausência de bioestimulantes x Aplicação de bioestimulantes); Q.M.: Quadrado Médio; C.V.: Coeficiente de Variação. \*\*: significativo ao nível 1% de probabilidade (p<0,01); \*: significativo ao nível de 5% de probabilidade (0,01 ≤ p < 0,05); ns: não significativo (p ≥ 0,05) pelo teste F.

Analisando de forma conjunta os resultados dos tratamentos que houve uso de bioestimulantes (fatorial) e comparando com ausência desses produtos (adicional), notou-se que houve diferença significativa para as variáveis avaliadas, exceto matéria natural da parte aérea, assimilação de CO<sub>2</sub>, condutância estomática, concentração de CO<sub>2</sub> intercelular e proteína bruta (Tabela 2).

Considerando as características em que houve interação significativa entre fontes e doses, foi observado que o aumento da dose promoveu diferentes respostas nas plantas. De maneira geral, os bioestimulantes, independente da dose e fonte, não resultou em maior NP e

AF das plantas de capim Mombaça, com redução aproximada de 8,0 e 1,4% em relação à testemunha, que apresentou 130 perfílios  $m^{-2}$  e 0,9  $m^2$  vaso $^{-1}$  de área foliar (Figura 1A e B).



**Figura 1:** Número de perfílios (A) e área foliar (B) de plantas de capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes, em condição de adubação de cobertura nitrogenada. Gurupi-TO, 2019.

Por outro lado, a AP foi influenciada de forma positiva pela aplicação de bioestimulantes (Tabela 3). Os maiores ganhos foram observados, independente da dose, nas fontes Substância Húmica+Glicina e Substância Húmica, com altura de 103,69 e 101,88 cm, respectivamente, que significa aumento médio de 8,0 cm em relação às plantas testemunha.

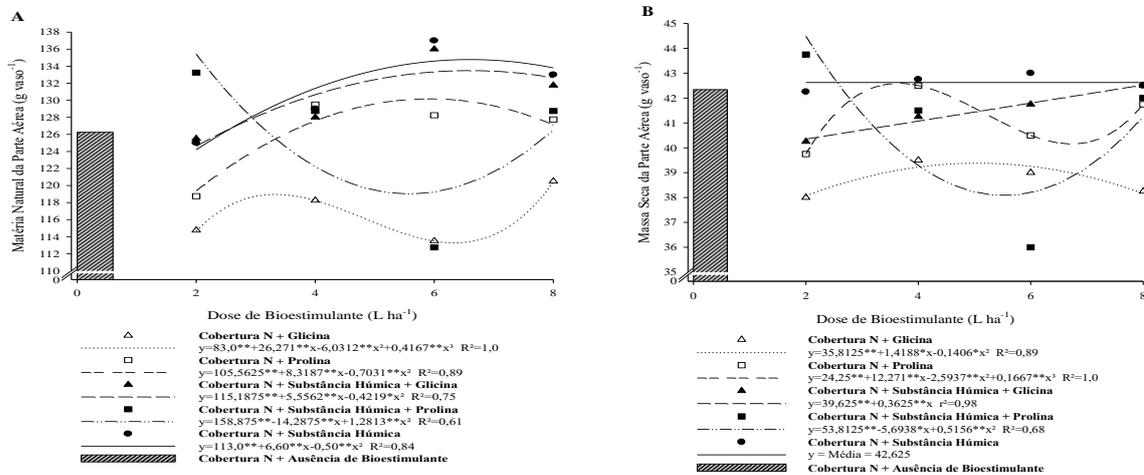
**Tabela 3:** Altura de planta de capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes, em condição de adubação de cobertura nitrogenada. Gurupi-TO, 2019.

Bioestimulante	Altura de planta (cm)
Glicina	99,38 ab
Prolina	98,50 ab
Substância Húmica + Glicina	103,69 a
Substância Húmica + Prolina	100,75 ab
Substância Húmica	101,88 a
Ausência de Bioestimulante	95,00 b

Médias seguidas de mesma letra não diferenciam entre si na coluna, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

Quanto a produção de MNPA do capim Mombaça foi observado que os melhores resultados foram com Substância Húmica e Substância Húmica+Prolina nas doses 4,1 e 2,0 L  $ha^{-1}$ , respectivamente (Figura 2A). Nessas concentrações, a produção média de 142,2 g vaso $^{-1}$

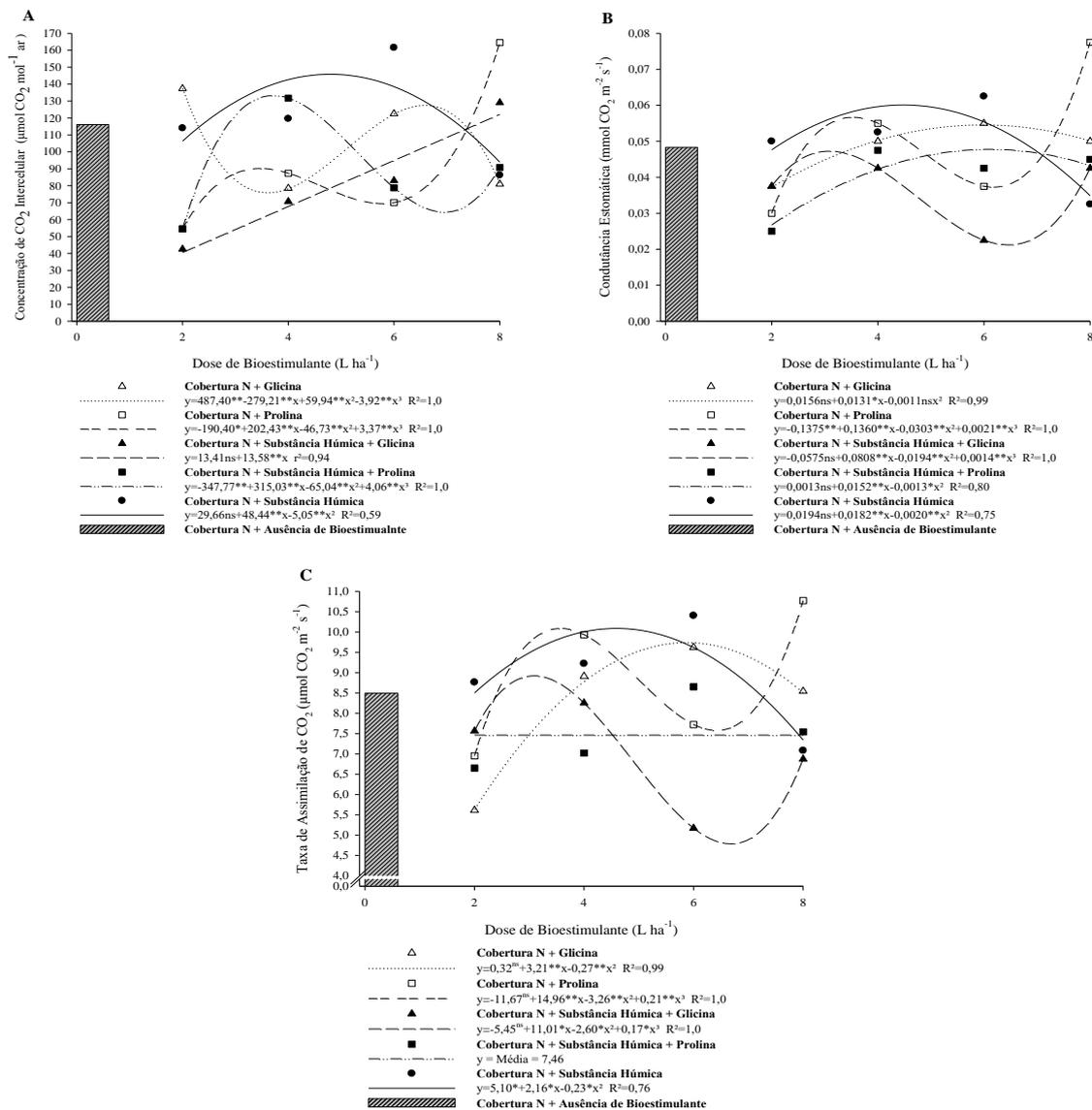
de matéria natural produzida foi incrementada em 13% quando comparada às plantas que não receberam bioestimulantes.



**Figura 2:** Matéria natural (A) e massa seca da parte aérea (B) de plantas de capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes, em condição de adubação de cobertura nitrogenada. Gurupi-TO, 2019.

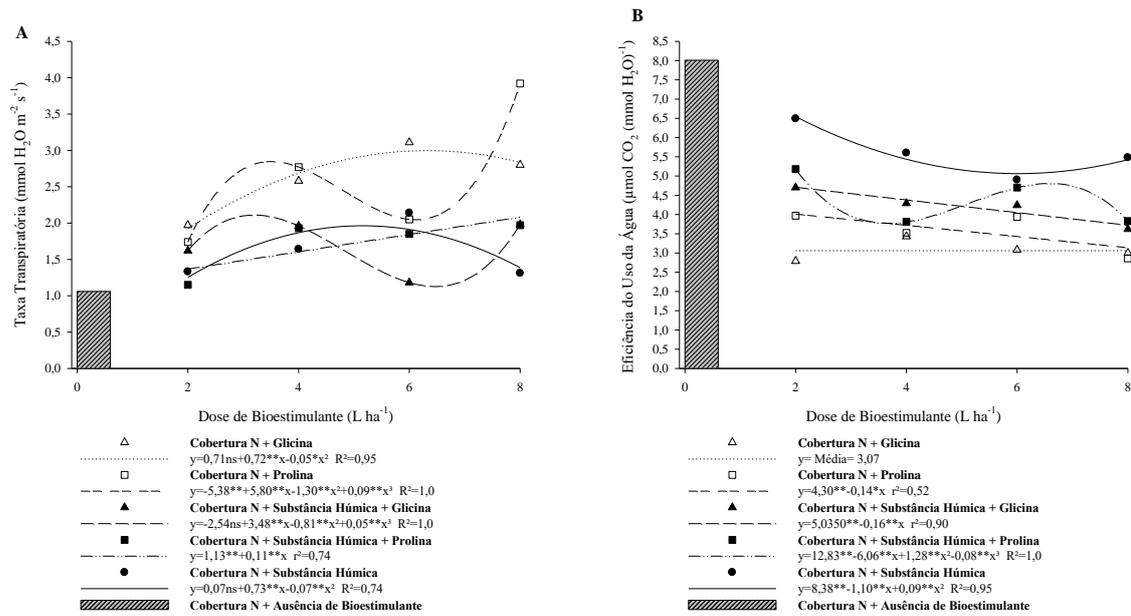
Já para MSPA, o aumento da dose dos bioestimulantes promoveu efeitos variados aos observados na MNPA (Figura 2B). Após a secagem, a biomassa das plantas sofreram alterações nos ajustes dos modelos matemáticos para a maioria das fontes. O maior resultado de MSPA foi obtido com 2,0 L ha<sup>-1</sup> de Substância Húmica+Prolina, que proporcionou produção de 44,1 g vaso<sup>-1</sup> de matéria seca, que corresponde à um acréscimo de 4% na produtividade do capim em relação às plantas testemunha.

Variações nas respostas fisiológicas sob a aplicação de bioestimulantes também foram observadas (Figura 3 e 4). A concentração de CO<sub>2</sub> intercelular, condutância estomática e taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> apresentaram padrões de respostas semelhantes, em que os melhores resultados foram com Substância Húmica na dose média de 4,7 L ha<sup>-1</sup> e Substância Húmica+Prolina na dose de e 8,0 L ha<sup>-1</sup>.



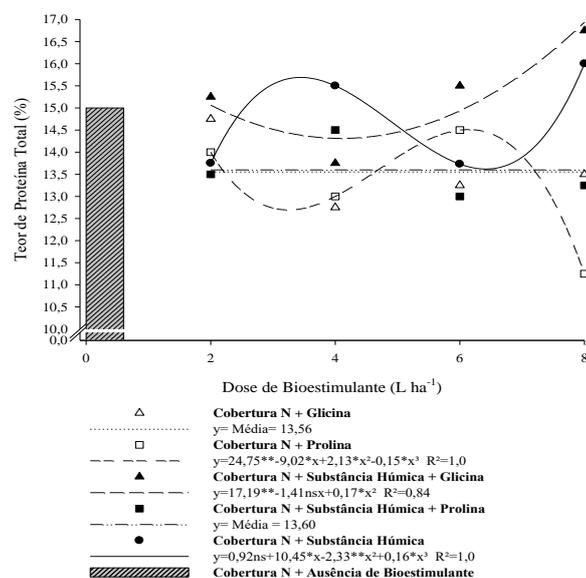
**Figura 3:** Concentração de CO<sub>2</sub> intercelular (A), condutância estomática (B) e taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (C) em plantas de capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes, em condição de adubação de cobertura nitrogenada. Gurupi-TO, 2019.

Sob essas doses e fontes os valores estimados para concentração de CO<sub>2</sub> intercelular foi de 155,14 µmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> ar (Figura 3A), condutância estomática de 0,070 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Figura 3B) e taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> de 10,5 µmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Figura 3C), representando acréscimo de, respectivamente, 34; 43 e 24% quando comparado à ausência de bioestimulantes.



**Figura 4:** Taxa transpiratória (A) e eficiência do uso da água (EUA) em plantas de capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes, em condição de adubação de cobertura nitrogenada. Gurupi-TO, 2019.

Para a taxa transpiratória notou-se que todas os bioestimulantes promoveram aumento na transpiração das plantas, em que a maior resposta foi com Prolina na dose de  $8,0 \text{ L ha}^{-1}$ , promovendo resultado 3,7 vezes superior quando comparado ao tratamento testemunha (Figura 4A). Já a eficiência do uso da água (EUA) sofreu redução, independente da fonte e dose utilizada. Para essa variável, a não ausência de bioestimulantes promoveu a melhor EUA superando em aproximadamente 23% o uso de substâncias húmicas e aminoácidos (Figura 4B).



**Figura 5:** Teor de proteína de plantas de capim *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça submetidas a aplicação foliar de fontes e doses de bioestimulantes, em condição de adubação de cobertura nitrogenada. Gurupi-TO, 2019.

Em relação ao teor de proteína constatou-se que os bioestimulantes inibiram as respostas dessa variável, exceto quando utilizado Substância Húmica e Substância Húmica+Glicina (Figura 5). As duas fontes na dose estimada de 3,4 e 8,0 L ha<sup>-1</sup>, respectivamente, promoveram maior acúmulo de proteína (valor médio de 16,23%), que corresponde a um teor proteico 1,08 vezes maior que a ausência de bioestimulantes (15% de proteína).

#### 4. DISCUSSÃO

As plantas forrageiras são fundamentais para a pecuária brasileira, fornecendo de forma mais acessível e barata o alimento para os animais. Nesta pesquisa, o efeito das substâncias húmicas e aminoácidos, associados à adubação de cobertura nitrogenada, provocou maior desenvolvimento da altura, biomassa e teor de proteína do capim Mombaça, sendo os resultados relacionados às alterações na fisiologia das plantas.

Apesar da aplicação de bioestimulantes não ter influenciado positivamente o número de perfilhos e área foliar, notou-se efeito positivo na altura de plantas, com ganhos de aproximadamente 8 cm por planta. A alteração na altura provavelmente contribuiu para o aumento na produção de 13% da matéria natural e 4% na matéria seca da parte aérea, com uso de Substância Húmica e Substância Húmica+Prolina, quando comparado à testemunha.

A utilização de substâncias húmicas associados com nitrogênio e substâncias húmicas mais aminoácidos foram demonstrados em alface, em que segundo Santos et al. (2018) a aplicação de ácidos húmicos promoveu melhoria na qualidade de mudas, no entanto, quando associado à concentrações acima de  $1 \text{ dag kg}^{-1}$  de nitrogênio houve redução no desenvolvimento das mudas. Avaliando a mesma hortaliça Silva et al. (2019) notaram que o uso combinado de SH, glicina e prolina promoveu efeitos positivos no desenvolvimento das mudas e absorção de N.

Além dos efeitos na produção, os bioestimulantes também alteram a fisiologia das plantas e a absorção de nutrientes. Dentre as características fisiológicas a concentração de  $\text{CO}_2$  intercelular, condutância estomática e taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$ , apresentaram acréscimos de 34; 43 e 24%, respectivamente, com ajustes nos modelos matemáticos semelhantes. O padrão das respostas fisiológicas, principalmente com aplicação de Substância Húmica e Substância Húmica+Prolina, condiz com a resposta observada na produção da matéria natural da parte aérea e indica que as alterações internas nas plantas de capim podem explicar os resultado na biomassa. Por outro lado, a aplicação dos bioestimulantes reduziu a eficiência no uso da água em torno de 23%, devido, principalmente, ao aumento na taxa transpiratória do de capim.

Na absorção de nutrientes, principalmente nitrogênio, é relatado na literatura aumento na aquisição e assimilação de nitrato, sob aplicação de aminoácidos. Schiavon et al. (2008) e Ertani et al. (2009) estudaram o efeito de misturas de aminoácidos a partir de hidrolisados proteicos de alfafa e, ou farinha de carne em plantas de milho, e notaram impacto significativo nas enzimas envolvidas no processo de assimilação de nitrato.

Em estudos com tomate a aplicação do produto 'Trainer R' (fonte de aminoácidos) aumentou significativamente a biomassa seca da parte aérea, radicular, total e conteúdo de N foliar, sendo que o aumento no metabolismo de nitrogênio e crescimento das plantas foi atribuído à estimulação da absorção e assimilação de nitrogênio, podendo melhorar aspectos fisiológicos como a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> e a translocação de fotoassimilados (COLLA et al., 2014).

Analisando conjuntamente, esses dados fornecem suporte à hipótese de que a aplicação exógena de aminoácidos tem capacidade de aumentar a eficiência de uso de nitrogênio da planta. Isso, por sua vez, proporciona estímulo geral à fotossíntese (assimilação de CO<sub>2</sub>) e ao crescimento das plantas, como observado nas plantas de capim Mombaça que receberam bioestimulantes, principalmente com o uso combinado entre prolina e substância húmica (DU JARIN, 2012).

No mesmo sentido, é atribuída às substâncias húmicas a capacidade de influenciar no ciclo de captação do nitrogênio (PICCOLO et al., 1992; NARDI et al., 2000; QUAGGIOTTI et al., 2004). De acordo com Zandonadi et al. (2010) ocorre nas plantas efeito do tipo auxínico e há estimulação nas bombas H<sup>+</sup>ATPase, fazendo com que o sistema simporte NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/H<sup>+</sup> funcione de forma mais eficaz. Além disso, as SHs também fazem com que a planta regule positivamente as enzimas no processo de assimilação do N, como nitrito redutase, glutamato sintase e aspartato aminotransferase (VACCARO et al., 2009), o resultado cumulativo é que a planta absorve mais nitrato.

Assim é possível dizer que tanto as substâncias húmicas quanto os aminoácidos podem influenciar diretamente o teor de proteína da planta, visto sua ação direta na absorção e assimilação de nitrogênio. No presente estudo houve aumento em 1,08 vezes no teor de proteína do capim Mombaça, comparado às plantas que não receberam bioestimulantes, em que Substância Húmica e Substância Húmica+Glicina, nas doses estimadas de 3,4 e 8,0 L ha<sup>-1</sup>, respectivamente, foram as mais eficientes.

Portanto, o bioestimulante associada à adubação de cobertura nitrogenada influenciou o desenvolvimento do capim, alterando a produção de biomassa da parte aérea, aspectos fisiológicos e o teor de proteína. Porém, devido a importância das plantas forrageiras e a capacidade desses produtos no crescimento vegetal, faz-se necessário mais trabalhos que, além das características observados neste estudo, investiguem a ação dos bioestimulantes em outros ambientes, combinações e espécies, visando promover maiores ganhos para a cadeia produtiva da pecuária no Brasil.

## 5. CONCLUSÕES

Os bioestimulantes a base de substâncias húmicas e aminoácidos, associados à adubação de cobertura nitrogenada foram eficazes na promoção do desenvolvimento de *Megathyrus maximus* Jacq. cv. Mombaça, incrementando a altura de plantas, produção de biomassa da parte aérea, teor de proteína, bem como os aspectos fisiológicos concentração de CO<sub>2</sub> intercelular, condutância estomática e taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>.

Para a produção de massa da parte aérea as fontes mais eficientes foram Substância Húmica e Substância Húmica+Prolina, nas doses de 4,1 e 2,0 L ha<sup>-1</sup>, respectivamente, aumentando em média 13% a matéria natural e 4% a massa seca do capim Mombaça. Já para o teor de proteína, as melhores fontes foram Substância Húmica e Substância Húmica+Glicina, na dose estimada de 3,4 e 8,0 L ha<sup>-1</sup>, incrementando em 8% a proteína total.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação dos bioestimulantes aumentou a produção e melhorou o teor de proteína do capim Mombaça devido, principalmente alterações na morfologia e fisiologia das plantas. Isso demonstra que além da melhoria no desenvolvimento das plantas, as fontes quando utilizadas, normalmente, em combinação agem de forma sinérgica e complementar.

Na condição de ausência de adubação de cobertura nitrogenada as fontes mais eficientes foram Substância Húmica e Prolina, nas doses estimadas de 6,5 e 3,1 L ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Já na condição de presença de nitrogênio em cobertura as melhores fontes foram Substância Húmica, Substância Húmica+Prolina e Substância Húmica+Glicina nas doses de 4,1; 2,0 e 8,0 L ha<sup>-1</sup>.

Além disso, foi observado que a aplicação dos bioestimulantes promoveram amplitude de ganhos maiores sob ausência de adubação de cobertura (35% em massa seca da parte aérea), por outro lado, mesmo apresentando maior produção total de biomassa e proteína os ganhos com os bioestimulantes foram menores (4% em massa seca da parte aérea) quando associados com a cobertura nitrogenada.

Os resultados nos levam a crer que pequenas alterações no ambiente de crescimento da planta, como por exemplo, a presença ou não da adubação nitrogenada, alteram os efeitos dos bioestimulantes e possivelmente os processos internos no vegetal. Resultando em variadas respostas no desenvolvimento das plantas, como as observadas na produção e teor de proteína, na associação de substâncias húmicas, aminoácidos e nitrogênio em cobertura. Assim, para futuras pesquisas sugere-se trabalhos utilizando a combinação de bioestimulantes com nitrogênio em doses intermediárias e superiores à 100 kg ha<sup>-1</sup>.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRINO, E.; NASCIMENTO JUNIOR, D.; MOSQUIM, P. R.; REGAZZI, A. J.; ROCHA, F. C. Características morfogênicas e estruturais na rebrotação da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida a três doses de nitrogênio. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 33, p. 1372-1379, 2004.

AYUSO, M.; HERNANDEZ, T.; GARCIA, C.; PASCUAL, J. A. Stimulation of barley growth and nutrient absorption by humic substances originating from various organic materials. *Bioresource Technology*, v. 57, p. 251–257, 1996.

BORGES, K. L. C. Dados espectrorradiométricos de campo e índices de vegetação para estimar porcentagem de cobertura vegetal verde de pastagens cultivadas. Brasília, Instituto de Geociências, Universidade de Brasília, 2015, 92p. Dissertação de Mestrado

BREMNER, J.M.; MULVANEY, C.S. Nitrogen total. In: Page, A.L. (ed.) *Methods of soil analysis*. Part 2. Madison: American Society of Agronomy, 1982. p. 595-624.

BROWN, P.; SAA, S. Biostimulants in agriculture. *Frontiers in Plant Science*, v. 6, p. 1-3, 2015.

CANELLAS L. P.; OLIVARES F. L. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, v. 1, p. 1-11, 2014.

CARNEIRO, J. S. S.; SILVA, P. S. S.; SANTOS, A. C. M.; FREITAS, G. A.; SILVA, R. R. Resposta do capim mombaça sob efeito de fontes e doses de fósforo na adubação de formação. *Journal of Bioenergy and Food Science*. v. 4, p. 12-25, 2017.

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, p. 1-6, 2014.

DARIO, G. J. A.; DARIO, I. S. N.; VAZQUEZ, G. H.; PERES, A. R. Adubação foliar com produtos à base de aminoácidos e fosfito na cultura do arroz irrigado. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, v. 13, p. 119-129, 2014.

DU JARDIN, P. The Science of Plant Biostimulants—A bibliographic analysis. Adhoc Study Report to the European Commission DG ENTR. 2012; [http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/files/fertilizers/final\\_report\\_bio\\_2012en.pdf](http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/files/fertilizers/final_report_bio_2012en.pdf).

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

FARIA, A. J. G.; FREITAS, G. A.; GEORGETTI, A. C. P.; FERREIRA JÚNIOR, J. M.; SILVA, M. C. A.; SILVA, R. R. da. Efeitos da adubação nitrogenada e potássica na produtividade do capim mombaça cultivados sobre adubação fosfatada. *Journal of Bioenergy and Food Science*, v. 2, p. 98-106, 2015.

GOMES, R. A.; LEMPP, B.; JANK, L.; CARPEJANI, G. C.; MORAIS, M. G. Características anatômicas e morfofisiológicas de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v. 46, p. 205-211, 2011.

MENDONÇA, E. S.; MATOS, E. S. *Matéria orgânica do solo: Métodos de análises*. Viçosa: UFV, 2005, 77p.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; GESSA, C.; FERRARESE, L.; TRAINOTTI, L.; CASADORO, G. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 32, p. 415–419, 2000.

PICCOLO, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Structural characteristics of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 24, p. 373–380, 1992.

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*, v. 55, p. 803–813, 2004.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V, V. H. *Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5a aproximação*. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999, 359p.

ROMA, C. F. C.; CECATO, U.; SOARES FILHO, C. V; SANTOS, G.T.; RIBEIRO, O.S.; IWAMOTO, B.S. Morphogenetic and tillering dynamics in Tanzania grass fertilized and nonfertilized with nitrogen according to season. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 41, p. 565-573, 2012.

SANTOS, A. C. M.; RODRIGUES, L. U.; ANDRADE, C. A. O.; CARNEIRO, J. S. S.; SILVA, R. R. Ácidos húmicos e nitrogênio na produção de mudas de alface. *Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia*, v. 11, p. 69-77, 2018.

SANTOS, M. E. R.; FONSECA, D. M.; BALBINO, E. M.; MONNERAT, J. P. I. S.; SILVA, S. P. Capim braquiária diferido e adubado com nitrogênio: produção e características da forragem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, p. 650-656, 2009.

SCHIAVON, M.; ERTANI, A.; NARDI, S. Effects of an alfalfa protein hydrolysate on the gene expression and activity of enzymes of TCA cycle and N metabolism in *Zea mays* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 11800–11808, 2008.

SILVA, R. R.; LUCENA, G. N.; MACHADO, A. F.; FREITAS, G. A.; MATOS, A. T.; ABRAHÃO, W. A. P. Spectroscopic and elementary characterization of humic substances in organic substrates. *Comunicata Scientiae*, v. 9, p. 264-274, 2018.

SILVA, R. R.; SANTOS, A. C. M.; CARNEIRO, J. S. S.; MARQUES, L. C.; RODRIGUES, L. U.; FARIA, A. J. G.; FREITAS, G. A.; NASCIMENTO, V. L. Biostimulants based on humic acids, amino acids and vitamins increase growth and quality of lettuce seedlings. *Journal of Agricultural Science*, v. 11, p. 235-246, 2019.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. Manual de métodos de análise de solo. EMBRAPA Solos, Brasília-DF, 3ª ed., 2017, 573p.

VACCARO, S.; MUSCOLO, A.; PIZZEGHELLO, D.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A.; NARDI, S. Effect of a compost and its water-soluble fractions on key enzymes of nitrogen metabolism in maize seedlings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, p. 11267–11276, 2009.

VIANA, M. C. M.; FREIRE, F. M.; FERREIRA, J. J.; MACÊDO, G. A. R.; CANTARUTTI, R. B.; MASCARENHAS, M. H. T. Adubação nitrogenada na produção e composição química do capim braquiária sob pastejo rotacionado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 40, p. 1497-1503, 2011.

ZANDONADI, D. B.; SANTOS, M. P.; DOBBSS, L. B.; OLIVARES, F. L.; CANELLAS, L. P.; BINZEL, M. L.; OKOROKOVA-FAÇANHA, A.; FAÇANHA, A. R. Nitric oxide mediates humic acids induced root development and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activation. *Planta*, v. 231, p. 1025–1036, 2010.

ZHANG, S.; LI, Q.; MA, K.; CHEN, L. Temperature-dependent gas exchange and stomatal/non-stomatal limitation to CO<sub>2</sub> assimilation of *Quercus liaotungensis* under midday higher irradiance. *Photosynthetica*, v. 39, p. 383-388, 2001.