

GABRIEL OLIVEIRA NEVES

**APLICAÇÃO FOLIAR DE MAGNÉSIO E AMINOÁCIDOS EM MILHO DE
SEGUNDA SAFRA: UMA ESTRATÉGIA PARA APRIMORAR O METABOLISMO
FOTOSSINTÉTICO E ANTIOXIDANTE**

Botucatu

2023

GABRIEL OLIVEIRA NEVES

**APLICAÇÃO FOLIAR DE MAGNÉSIO E AMINOÁCIDOS EM MILHO DE
SEGUNDA SAFRA: UMA ESTRATÉGIA PARA APRIMORAR O METABOLISMO
FOTOSSINTÉTICO E ANTIOXIDANTE**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre Agronomia (Agricultura).

Orientador(a): Carlos Alexandre Costa
Crusciol

Botucatu

2023

N518a	Neves, Gabriel Oliveira Aplicação foliar de magnésio e aminoácidos em milho de segunda safra : uma estratégia para aprimorar o metabolismo fotossintético e antioxidante / Gabriel Oliveira Neves. -- Botucatu, 2023 56 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu Orientador: Carlos Alexandre Costa Crusciol 1. Manejo antiestresse. 2. Absorção foliar. 3. Zea Mays L.. 4. Efeito bioestimulante. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: APLICAÇÃO FOLIAR DE MAGNÉSIO E AMINOÁCIDOS EM MILHO DE SEGUNDA SAFRA: UMA ESTRATÉGIA PARA APRIMORAR O METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E ANTIOXIDANTE

AUTOR: GABRIEL OLIVEIRA NEVES

ORIENTADOR: CARLOS ALEXANDRE COSTA CRUSCIOL

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Agronomia (Agricultura), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. CARLOS ALEXANDRE COSTA CRUSCIOL (Participação Virtual)
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu

Prof. Dr. MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO (Participação Virtual)
Fitossanidade / FEIS UNESP Ilha Solteira

Prof. Dr. JULIANO CARLOS CALONEGO (Participação Virtual)
Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu - UNESP

Botucatu, 25 de agosto de 2023

Aos meus pais, Andreza Oliveira
Neves e Sinval Rodrigues Neves,
por me apoiarem em toda a minha
vida.

A Deus.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida, saúde, pelos meus dons e talentos confiados.

Agradeço à minha família, por estar presente nos momentos de necessidade e de alegria, sempre me dando apoiando em todas as minhas decisões;

Agradeço ao professor Carlos Alexandre Costa Crusciol, por confiar no meu trabalho e ter me aceitado no seu grupo, pela sua paciência, compreensão e apoio sempre prestados;

Agradeço a todos os amigos que a Pós-graduação me proporcionou conhecer e viver momentos que jamais serão esquecidos, em especial: Sirlene, Tatiane, João Bossolani, Luiz Moretti, José Portugal, Israel, Mariley, Tarcísio, meus estagiários e aos demais que de alguma forma contribuíram durante o meu percurso acadêmico;

À minha namorada Emily que acima de tudo é uma grande amiga, sempre presente nos momentos difíceis com uma palavra de incentivo;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 88887.627474/2021-00.

Por último, quero agradecer também à Universidade UNESP/FCA-Botucatu e todo o seu corpo docente que tive a sorte e o prazer inenarrável de conhecer e aprender com eles, pessoas abençoadas por seguirem uma profissão tão nobre.

“A ciência é uma aventura da mente humana em busca da verdade”

Planck, M. Where Science is Going? Ox Bow
Press, Wood-bridge, 1981, 220 p.

RESUMO

As aplicações foliares de produtos à base de fertilizantes e aminoácidos tem sido uma prática empregada a fim de maximizar o potencial produtivo das lavouras de alto padrão tecnológico. Estes produtos quando aplicados em estágios de desenvolvimento estratégicos conferem maior resiliência às plantas acometidas por estresses bióticos e abióticos. Entretanto, poucos trabalhos estudaram os aspectos do metabolismo fotossintético e antioxidante na cultura do milho quando da aplicação de magnésio (Mg) e aminoácidos (AA) foliar, em condições de campo. Deste modo, objetivou-se com este trabalho avaliar como as aplicações de AA's e de Mg foliar afetam o metabolismo fotossintético e antioxidante de plantas de milho de segunda safra. O experimento foi conduzido nas safras de outono/inverno de 2021 e 2022, respectivamente, na Fazenda experimental Lageado, pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista – Campus de Botucatu. Os tratamentos foram constituídos por quatro tratamentos de aplicação foliar: (I) Controle, (II) Magnésio [Mg^{2+} ($MgCl_2$)], (III) Aminoácidos (AA) e (IV) Mg^{2+} + AA. O delineamento experimento foi de blocos casualizados (DBC) com oito repetições. O Mg^{2+} foi aplicado na dose de 500 g ha^{-1} , e o AA foi aplicado na dose 1250 g ha^{-1} , ambos aplicados no estágio VT. Foram avaliados o status nutricional das plantas de milho, pigmentos fotossintéticos, atividade das enzimas Rubisco e Nitrato Redutase (NR), trocas gasosas (parâmetros fotossintéticos), enzimas antioxidantes, superóxido dismutase e catalase, componentes de produção e produtividade de grãos (PG) e concentração de proteínas nos grãos. Os dados foram submetidos à ANOVA e ao teste LSD ($p < 0,05$). Os resultados indicaram que quando Mg^{2+} + AA foram aplicados em conjunto, observou-se maior atividade fotossintética e antioxidante em relação aos demais tratamentos. Estes resultados refletiram na resposta da produtividade de grãos, no qual a aplicação isolada de Mg proporcionou um aumento médio de 353 kg ha^{-1} em relação ao controle. Quando o AA foi aplicado isoladamente, o incremento médio, em relação ao controle, foi de 655 kg ha^{-1} . Contudo, quando aplicados em conjunto (Mg^{2+} +AA), o incremento médio observado foi de 1.002 kg ha^{-1} . Além disso, a aplicação conjunta também refletiu no teor de proteínas totais nos grãos. Estes resultados indicam um efeito sinérgico entre estes produtos sobre o metabolismo fotossintético e antioxidante das plantas de milho, sendo assim, efetivos em aliviar os efeitos de estresse e proporcionar incrementos produtivos no milho de segunda safra.

Palavras-chave: manejo antiestresse; absorção foliar; *Zea mays* L.; efeito bioestimulante.

ABSTRACT

Foliar applications of fertilizer and amino acid-based products have been a practice used to maximize the productive potential of high-tech crops. These products, when applied at strategic stages of development, provide greater resilience to plants affected by biotic and abiotic stresses. However, few studies have studied aspects of photosynthetic and antioxidant metabolism in corn when applying magnesium (Mg) and amino acids (AA) foliar, under field conditions. Therefore, the objective of this work was to evaluate how applications of AA's and foliar Mg affect the photosynthetic and antioxidant metabolism of off-season maize plants. The experiment was conducted in the autumn/winter growing season of 2021 and 2022, respectively, at the Lageado experimental farm, belonging to the Faculty of Agricultural Sciences of the São Paulo State University – Botucatu Campus. The treatments consisted of four foliar application treatments: (I) Control, (II) Magnesium [Mg^{2+} (MgCl_2)], (III) Amino acids (AA) and (IV) Mg^{2+} + AA. The experimental design was randomized blocks (DBC) with eight replications. Mg^{2+} was applied at a dose of 500 g ha^{-1} , and AA was applied at a dose of 1250 g ha^{-1} , both applied at the VT stage. The nutritional status of maize plants, photosynthetic pigments, activity of Rubisco and Nitrate Reductase (NR) enzymes, gas exchange (photosynthetic parameters), antioxidant enzymes, superoxide dismutase and catalase, production components and grain productivity (PG) and protein concentration in grains. The data were submitted to ANOVA and the LSD test ($p < 0.05$). The results indicated that when Mg^{2+} + AA were applied combined, greater photosynthetic and antioxidant activity was observed in relation to the other treatments. These results were reflected in the response of grain yield, in which the isolated application of Mg provided an average increase of 353 kg ha^{-1} in relation to the control. When AA was applied alone, the average increase, in relation to the control, was 655 kg ha^{-1} . However, when applied together (Mg^{2+} +AA), the average increase observed was $1,002 \text{ kg ha}^{-1}$. Furthermore, the combined application also reflected the total protein content in the grains. These results indicate a synergistic effect between these products on the photosynthetic and antioxidant metabolism of maize plants, thus being effective in alleviating the effects of stress and providing productive increases in second-crop corn.

Keywords: anti-stress management; foliar absorption; *Zea mays* L.; stimulating effect.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Balanço hidroclimático referente às safras de milho de segunda safra nos anos de 2021 (a) e 2022 (b) no município de Botucatu-SP. ETP: evapotranspiração potencial, ETC: evapotranspiração da cultura.....32**
- Figura 2 – Teores foliares de macronutrientes em plantas de milho sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos (AA). N (a), P (b), K (c), Ca (d), Mg (e), e S (f).....33**
- Figura 3 – Teores foliares de micronutrientes em plantas de milho sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos (AA). Fe (a), Cu (b), Zn (c), Mn (d), B (e).....34**
- Figura 4 – Atividade da enzima nitrato redutase em folhas de plantas de milho sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos (AA).....35**
- Figura 5 – Clorofila a, Chl a (a); Clorofila b, Chl b (b); Clorofila a + b, Chl a+b (c); carotenóides (d) e índice SPAD (e) em folhas de plantas de milho sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos (AA).36**
- Figura 6 – Parâmetros fotossintéticos em folhas de milho: fotossíntese líquida, A (a); condutância estomática, gs (b); concentração de CO_2 na câmara subestomática, Ci (c); transpiração foliar, E (d); eficiência do uso da água, EUA (e); eficiência da carboxilação (f) sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e Aminoácidos (AA).....37**
- Figura 7 – Atividade da Rubisco em folhas de plantas de milho sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos (AA).39**
- Figura 8 – Concentração de Peróxido de hidrogênio, H_2O_2 (a), malondialdeído, MDA (b), superóxido dismutase, SOD (c) e catalase (d) em folhas de milho sob influência da aplicação de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos.40**
- Figura 9 – Altura de plantas (a) e Componentes de produção: número de fileiras por espiga (b) número de grãos por fileira (c), número de grãos por espiga (d) massa de cem grãos (M100G) (e) e produtividade de grãos**

(f) de milho sob influência da aplicação de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos..... 41

Figura 10 – Concentração de Albumina (a), Glutelina (b), Globulina (c), Prolamina (d), e proteína total (e) em grãos de milho sob influência da aplicação de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos. 42

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1	Cultivo de milho de segunda safra no Brasil	21
2.2	Absorção e aplicação foliar	21
2.3	Dinâmica do magnésio no solo e na planta.....	23
2.4	Absorção e metabolismo de aminoácidos nas plantas.....	24
3	MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1	Caracterização da área experimental	26
3.2	Cultivo do milho.....	27
3.3	Delineamento experimental e tratamentos	27
3.4	Análises fisiológicas	28
3.5	Componentes de produção e produtividade	30
3.6	Teor de proteínas nos grãos.....	31
3.7	Análise estatística.....	31
4	RESULTADOS	32
4.1	Balanço hidroclimático.....	32
4.2	Status nutricional foliar e atividade da Nitrato redutase	32
4.3	Índice Spad e pigmentos fotossintéticos	35
4.4	Trocas gasosas.....	37
4.5	Atividade da Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco)	38
4.6	Atividade enzimática: enzimas antioxidantes	39
4.7	Componentes de produção e produtividade de grãos	40
4.8	Proteínas nos grãos	41
5	DISCUSSÃO.....	43
6	CONCLUSÕES.....	48
	REFERÊNCIAS.....	49
	ANEXO 1 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA	55

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de milho (*Zea mays* L.) e isso se deve, dentre outros fatores, à implementação de uma segunda safra (milho-safrinha), após a colheita da soja de verão. O cultivo do milho de segunda safra ultrapassou em área e produção o cultivo do milho verão, e corresponde a 77% da produção nacional de milho (Nóia Júnior; Sentelhas, 2019; CONAB, 2023). No entanto, condições ambientais como seca e ondas de calor reduzem a produção, levando a perdas econômicas. Em razão das mudanças climáticas, os efeitos negativos do estresse abiótico na agricultura são intensificados, representando um desafio global para a produção de alimentos (Hura et al., 2022; Kumari et al., 2022).

A aplicação foliar de nutrientes tem sido uma eficiente estratégia para reduzir o estresse abiótico e aumentar o potencial produtivo em culturas agrícolas, (KUMARI et al., 2022; RODRIGUES et al., 2021). Em plantas bem nutridas, a adubação foliar pode assumir papel estimulante, fornecendo nutrientes às plantas em estágios críticos de desenvolvimento, aumentando a nutrição, atividade fotossintética, a produtividade de grãos e reduzindo o estresse oxidativo (GALERIANI et al., 2022; MORETTI et al., 2021; OLIVEIRA et al., 2022; RODRIGUES et al., 2021; ROSOLEM, 2002). Em estudo anterior, foi demonstrado que a aplicação foliar de magnésio (Mg^{2+}) em plantas bem nutridas foi eficiente em melhorar a atividade fotossintética, o metabolismo antioxidante e a produtividade de plantas de soja e milho (Rodrigues et al., 2021), devido ao papel do Mg^{2+} na síntese de clorofila, transporte e utilização de fotoassimilados, ativação de enzimas e síntese de proteínas (Ishfaq et al., 2022b).

Nos últimos anos, outros bioestimulantes ganharam espaço no manejo das culturas agrícolas, à exemplo da aplicação de aminoácidos (AA) que tem sido objeto de estudos devido ao seu papel como agente redutor de estresse, fonte orgânica de nitrogênio e precursor hormonal (Kadotani et al., 2016; Batista-Silva et al., 2019; Deller, 2020). As plantas podem sintetizar AA, mas isso requer uma grande quantidade de energia. Assim, a aplicação de AA prontos para absorção pode aumentar o ritmo de desenvolvimento ou reconstrução das plantas, especialmente em momentos críticos do seu ciclo de vida, ao permitir que estas economizem energia

(Popko et al., 2018). Apesar disso, a aplicação exógena de AA é uma tecnologia relativamente nova e muitos aspectos sobre a fisiologia das plantas cultivadas é pouco compreendido, principalmente em condições de campo.

Quando utilizados dois ou mais componentes com efeito bioestimulante é comum observar um efeito sinérgico entre estes, o que resulta em uma potencialização do crescimento e desenvolvimento das plantas (Zamljen et al., 2023). Neste estudo, a hipótese levantada é de que a aplicação foliar combinada de Mg^{2+} e AA potencializa os efeitos positivos sobre a atividade fotossintética e atividade do metabolismo antioxidante em plantas de milho de segunda safra. Portanto, objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos da aplicação conjunta de Mg^{2+} e AA via foliar sobre o metabolismo do fotossintético, antioxidante e produtivo em milho de segunda safra.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultivo de milho de segunda safra no Brasil

O milho é uma cultura difundida mundialmente e ocupa uma área global de 197 milhões de hectares (ha) (FAOStat, 2021), sendo o Brasil o terceiro maior produtor, ficando atrás apenas dos EUA e China (USDA, 2023). A inserção de uma segunda safra de milho, sob o sistema de sucessão soja-milho, impulsionou significativamente a produção nacional de grãos (Nóia Júnior; Sentelhas, 2019). De 1980 a 2023, a produção de milho de segunda safra aumentou 1.222 vezes, acompanhado por um aumento de 117 vezes na área de produção. Esse crescimento reflete um aumento real na produtividade, graças ao uso de ferramentas tecnológicas (CONAB, 2023b, DANIEL et al., 2019). Normalmente, o milho de segunda safra é semeado entre os meses de janeiro a abril, contudo, quando cultivado tardiamente as condições climáticas se tornam fatores restritivos durante as fases reprodutivas do seu ciclo (Nóia Júnior; Sentelhas, 2019).

Sob condição de seca, as plantas reduzem sua capacidade fotossintética e aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's), que em excesso, causam estresse oxidativo devido ao seu papel na peroxidação lipídica e danos ao material genético. Na prática, isto causa redução da produção de fotoassimilados, crescimento inibido e redução do rendimento de colheita. Quando a seca ocorre em estágios críticos, como a fase reprodutiva, a fertilização dos grãos é prejudicada ou, após a fertilização, os grãos são abortados devido à competição por fotoassimilados, causando redução na massa e no número de grãos por espiga (Li et al., 2022). Neste sentido, o uso de tecnologias complementares, como as aplicações foliares tem se mostrado promissoras no alívio do estresse oxidativo, devido à melhoria do metabolismo fotossintético e antioxidante.

2.2 Absorção e aplicação foliar

A adubação foliar é uma prática complementar de manejo cada vez mais difundida. Esta prática consiste em uma alternativa para disponibilizar nutrientes em estágios críticos de desenvolvimento, sendo aplicados diretamente ao tecido alvo, em quantidades reduzidas, culminando em menor impacto ambiental (Sekhon, 2003;

Fernández; Eichert, 2009; Nicchio et al., 2021). A adubação foliar pode ser aplicada com diversos objetivos, podendo ser preventiva: para evitar que haja deficiências nutricionais, mas que não há certeza de resposta, corretiva: quando se aplica para suprir deficiências nutricionais já existentes, substitutiva: aquela que substitui a adubação via solo, complementar: aquela que complementa o nutriente já fornecido via solo, e suplementar estimulante (Rosolem, 2002). Esta prática não visa substituir a aplicação de nutrientes via solo, mas de modo complementar, sendo designada por diversos autores como adubação foliar estimulante (Rosolem, 2002; Moretti et al., 2021; Rodrigues et al., 2021).

As folhas, assim como as raízes, possuem a habilidade de absorver água e nutrientes presentes em sua superfície. Essa capacidade de absorção é igualmente eficiente àquela realizada pelas raízes. No entanto, a diferença principal está no tempo necessário para que ocorra a absorção. Nas raízes a solução pode penetrar até a endoderme (região limitada pela estria de Caspary, criando uma barreira seletiva), enquanto, nas folhas, a penetração é limitada devido as estruturas anatômicas (cutícula/ epiderme e membrana plasmática/tonoplasto) que protegem as folhas contra o dessecamento e dificultam a movimentação de gases e soluções (Fernández V, 2013; Wang et al., 2019).

Os nutrientes aplicados via foliar podem penetrar no tecido foliar em maior quantidade através da cutícula e em menor grau pelos estômatos (Fernández; Eichert, 2009; Fernández V, 2013). Sob disponibilidade hídrica satisfatória (células túrgidas), as pectinas absorvem água e expandem seu volume, afastando as placas de cutina, permitindo a saída e entrada de água de/para o meio externo, formando pontes de pectinas, sendo esta, a principal forma de entrada de substâncias através das folhas (rota da pectina), no qual são posteriormente absorvidas através do transporte ativo. Outras vias incluem poros aquosos e ectodesmatosos, e tricomas (Ishfaq et al., 2022a).

Durante muito tempo, a eficiência da aplicação foliar foi passível de discussão, devido à baixa eficiência de absorção dos produtos ocasionado pelo uso incorreto de compostos nutricionais e, também à baixa qualidade dos produtos disponíveis (Rosolem, 2002). No entanto, o desenvolvimento e aprimoramento de tecnologias de aplicação como adjuvantes, surfactantes, umectantes quelantes e outros diversos

contribuiu para o aumento da eficiência da adubação foliar e o aumento desta prática de manejo nos sistemas produtivos (Fernández et al., 2015)

2.3 Dinâmica do magnésio no solo e na planta

Apesar do íon Magnésio (Mg^{2+}) ser um elemento de raio iônico reduzido, possui um grande raio hidratado, sendo superior aos íons de potássio (K^+) e cálcio (Ca^{2+}) (Marschner, 2011). Em virtude disso, o Mg^{2+} é pouco retido nos coloides do solo, especialmente quando estes encontram-se intemperizados, ácidos e com baixa capacidade de troca catiônica, o que propicia sua perda por lixiviação (Chaudhry et al., 2021). Além disso, a absorção de Mg^{2+} pode ser significativamente prejudicada pela presença de outros cátions como K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} e Mn^{2+} ou de íons H^+ nos solos ácidos (Marschner, 2011). Embora o Mg^{2+} seja fornecido satisfatoriamente através da calagem (Bossolani et al., 2021), estudos recentes apontam aumento da fotossíntese líquida, tolerância a estresses e aumento da produtividade mediante aplicação via foliar (He et al., 2020; Kanjana, 2020; Kibria et al., 2021; Rodrigues et al., 2021).

Nos tecidos vegetais, o Mg^{2+} é absorvido via transporte ativo por meio de proteínas de membrana especializadas. Diversos transportadores de Mg^{2+} foram identificados em diferentes culturas, incluindo o AtMGT (*Arabidopsis thaliana* Magnesium Transporters), o OsMGT1 / OsMRS2-2 (*Oryza sativa* Magnesium Transporters), encontrado no arroz, e o ZmMGT (*Zea mays* Magnesium Transporters), encontrado no milho. Essas proteínas desempenham um papel fundamental na absorção e transporte de magnésio nas plantas (Li et al., 2018), pois atuam como canais que permitem o movimento de íons Mg^{2+} através das membranas, conduzidos pelo gradiente de potencial eletroquímico (Marschner, 2011).

Na planta, o Mg^{2+} desempenha um papel essencial como cofator alostérico em mais de 300 enzimas, incluindo carboxilases, fosfatases, proteínas quinases, RNA polimerases e ATPases (Chaudhry et al., 2021). No entanto, sua contribuição mais significativa está relacionada ao aparato fotossintético. Cerca de 15 a 35% do Mg^{2+} absorvido pelas plantas é utilizado na formação de pigmentos fotossintéticos (clorofilas), enquanto o restante (~65 a 85%) é armazenado nos vacúolos para a síntese e ativação de proteínas como a ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) e outros processos importantes. Dentre estes, destacam-se o transporte de sacarose, metabolismo energético, utilização de N, desenvolvimento do pólen e

fertilidade masculina, tolerância ao estresse, interações planta-microrganismos etc. (Karley;White, 2009; Marschner, 2011; Ishfaq et al., 2022b).

2.4 Absorção e metabolismo de aminoácidos nas plantas

Os aminoácidos (AA) são compostos orgânicos nitrogenados e que participam da síntese de outros compostos orgânicos importantes para o crescimento e desenvolvimento das plantas (Goss, 1973; Tadros; Turk, 2019). Dentre estes, podem ser citados a formação das proteínas, precursores hormonais (como o triptofano – auxina, metionina - etileno e poliaminas), precursores fenólicos e de flavonoides (Fenilalanina – Ácido Cinâmico e Cumárico, lignina e antocianina), no transporte e armazenamento de nitrogênio (Glutâmico – glutamina e aspártico - asparagina), produção de prolina (controle do estresse hídrico), síntese de clorofila e produção de defesas contra patógenos. Além disso, os aminoácidos têm ação complexantes, podem atuar como protetores de cátions, como no zinco, cobre, manganês e ferro, favorecendo a disponibilidade as plantas (Guo et al., 2021; Miri Nargesi et al., 2022).

As primeiras evidências de que as plantas eram capazes de absorver aminoácidos surgiram no início do século XX (Hutchinson; Miller, 1912). Por serem moléculas de carga neutra, conseguem se difundir facilmente pelas barreiras cuticulares da folha, chegando mais rapidamente à interface da membrana (Fernández, 2013; Jeppsen, 1999). Um estudo demonstrou que todos os aminoácidos testados puderam ser absorvidos por *Arabidopsis thaliana* (Forsum et al., 2008). Apesar disso, a capacidade de absorção de alguns aminoácidos de cadeia longa pelas plantas é passível de discussão. Três famílias principais de transportadores foram identificados: ATF (família de transportadores de aminoácidos, também chamada de família AAP), APC (família de transportadores de aminoácidos-poliamina-colina) e UMAMIT (geralmente família de transportadores de entrada e saída de ácidos múltiplos) (Dinkeloo et al., 2018). Ao difundir para o interior da célula, a substância pode ser metabolizada e/ ou ser transportada entre células por meio dos plasmodesmos, atingindo o floema, para ser transportada para regiões de rápido crescimento e/ ou em tecidos em crescimento, pois no floema os aminoácidos são reconhecidos como fontes de nitrogênio orgânico. A absorção de aminoácidos é energeticamente mais vantajosa, em comparação a absorção de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) ou fixação biológica, pois esses processos demandam energia para serem absorvidos e incorporados em aminoácidos (Teixeira

et al., 2018; Yang et al., 2020).

Os processos de absorção de aminoácidos via solo são melhores explorados (Svennerstam et al., 2007; Sauheiti et al., 2009; Yang et al., 2020), contudo experimentos avaliando os efeitos da aplicação foliar de aminoácidos evidenciaram consideráveis efeitos benéficos sobre a fisiologia de plantas cultivadas, especialmente sobre o seu papel na tolerância a estresses nas plantas, atuando sobre a síntese de metabólitos secundários, como osmoprotetores, substratos para a produção mitocondrial de ATP e moléculas de sinalização (Teixeira et al., 2017, 2018; Heinemann; Hildebrandt, 2021). Em milho, alguns estudos apontam um importante papel sobre a ativação do metabolismo antioxidante (Noman et al., 2015; Tadros; Turk, 2019; Shafiq et al., 2021). Apesar disso, a literatura sobre a aplicação foliar com aminoácidos ainda é bastante incipiente, principalmente no tocante à sua aplicação em condições de campo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área experimental

O experimento foi realizado durante o outono/inverno dos anos de 2021 e 2022, cuja semeadura ocorreu após o cultivo da soja de verão. A área experimental pertence à área Experimental Lageado da Universidade Estadual Paulista (UNESP), município de Botucatu do estado de São Paulo, Brasil 48° 26' W, 22° 51' S). O município possui altitude de 786 m acima do nível do mar, clima do tipo Cwa, mesotérmico com chuvas no verão e seca no inverno segundo classificação de Köppen, precipitação média anual 1360 mm e temperatura média anual de 20,7 °C (Unicamp, 2020). O solo da área de cultivo é um Latossolo Vermelho distroférico (Embrapa, 2018).

O cultivo de milho foi conduzido sob sistema de sequeiro, e para demonstrar as condições climáticas durante o período em que a cultura estava no campo foi construído um balanço hídrico a partir de planilhas elaboradas por Rolim, Sentelhas e Barbieri (1998). Estas planilhas foram alimentadas com dados climáticos como precipitação pluvial, temperatura máxima e mínima obtidos a partir de uma estação meteorológica próxima a área de cultivo. Também foram considerados os dados de capacidade de armazenamento de água (CAD) no solo, obtido conforme descrito por Silva (Silva, 2019) além da latitude e insolação.

A área experimental é cultivada anualmente sob sistema de sucessão soja-milho. As características químicas e físicas do solo da camada de 0,0-0,2 m foram determinadas (Van Raij et al., 2001) previamente à instalação do experimento conforme apresentadas na Tabela 1. A correção da acidez do solo ocorreu 60 dias antes da semeadura, no qual foi aplicado 2 toneladas de calcário agrícola contendo 28% de CaO, 12% de MgO e PRNT de 70% a fim de corrigir a camada de 0,0-0,2 m para 70% (Quaggio; Furlani, 1997).

Tabela 1 – Resultados da caracterização física e química do solo da área experimental. Botucatu – SP, 2021

Caracterização física do solo							
Argila		Silte		Areia		Densidade	
..... g kg ⁻¹		 g kg ⁻¹		 g kg ⁻¹		 g cm ⁻³	
602,0		281,0		117,0		1,19	
Caracterização química do solo							
pH (CaCl ₂)	M.O	P (resina)	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Al ³⁺	Acidez potencial
--	g dm ³	mg dm ³	 mmol _c dm ³				
5,0	30,4	29,6	37,6	13,7	1,6	1,5	32,5
S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	V	CTC _{pH 7,0}
..... mg dm ³						(%)	mmol _c dm ³
4,90	0,5	6,0	22,0	19,2	1,2	60,6	85,3

Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺ determinados pelo método de resina; Al³⁺ determinado com extrator KCl. B: água quente. Cu, Fe, Mn, Zn: solução DTPA

3.2 Cultivo do milho

O milho foi cultivado entre os meses de março e agosto dos anos de 2021 e 2022. Foram utilizadas sementes do híbrido de milho FS587 (Forseed®) no qual foram previamente tratadas com os fungicidas (carboxina + tirame, 1 g i.a. kg⁻¹). O espaçamento entre linhas foi de 0,45 m e a densidade de semeadura do milho foi de 3,1 sementes metro⁻¹, com população inicial estimada em aproximadamente 68.888 plantas ha⁻¹. A adubação de semeadura foi realizada com a aplicação de 300 kg ha⁻¹ do formulado 08-28-16 nas duas safras de milho (van Raij et al., 1998). No estágio de desenvolvimento V₅ foi aplicado 100 kg ha⁻¹ de N via ureia como adubação de cobertura. Os demais tratamentos fitossanitários foram realizados conforme recomendações para a cultura do milho (Galvão et al., 2017).

3.3 Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi conduzido sob delineamento de blocos casualizados, contendo quatro tratamentos de aplicação via foliar: (I) Controle, (II) Magnésio (Mg²⁺), (III) aminoácidos (AA), (IV) Mg²⁺ + AA, com oito repetições, em duas safras de cultivo. O produto foliar à base de Mg²⁺ foi aplicado sob a dose de 500 g ha⁻¹ de Mg²⁺ (MgCl₂) e o produto à base de aminoácidos foi aplicado sob a dose de 1250 g ha⁻¹ cuja composição está descrita na Tabela 2, juntamente com um adjuvante à base de

silicone (30 mL ha⁻¹; Disperse®; Ubyfol; Uberaba, Brazil). As doses foram definidas com base nas recomendações dos respectivos fabricantes. Ambos os produtos foram aplicados no estágio de desenvolvimento Vt. Este estágio configura a transição do estágio vegetativo para o estágio reprodutivo, com o aparecimento do pendão, logo, este é um período crítico para o estágio reprodutivo, e eventuais estresses ambientais podem afetar o potencial produtivo para a cultura do milho (Galvão et al., 2017). As pulverizações foram realizadas no final da tarde, utilizando um pulverizador costal pressurizado a CO₂ com pressão constante de 1,8 BAR, cuja barra de aplicação continha 6 bicos do tipo Teejet, modelo XR 110 02 VP, gerando volume de calda de 200 L ha⁻¹. As pulverizações foliares foram realizadas de acordo com as recomendações técnicas dos respectivos fabricantes. Cada unidade experimental era constituída por parcelas de 10 m de comprimento e 10 linhas com uma área útil de 15 m².

Tabela 2. Dose e composição do produto à base de aminoácidos aplicado em folhas de milho.

Dose	Composição (g ha ⁻¹)									
	Ala	Arg	Asp	Cys	Glu	Gly	Hys	Hyp	Ile	Leu
	212,5	0,075	200	0,525	0,788	0,1625	6,25	0,0625	0,05	0,075
1250 g ha ⁻¹	Lys	Met	Fen	Pro	Ser	Hyl	Thr	Trip	Tir	Val
	0,05	0,025	0,05	96	0,05	48	0,05	0,05	0,025	0,1

Ala: Alanina, Arg: Arginina, Asp: Ácido aspártico, Cys: Cistina, Hys: Histidina, Ile: Isoleucina, Leu: Leucina, Lys: Lisina, Met: Metionina, Fen: Fenilalanina, Pro: Prolina, Ser: Serina, Hyl: Hidroxilisina, Thr: Treonina, Trip: Triptofano, Tir: Tirosina, Val: valina.

3.4 Análises fisiológicas

As amostragens para as análises fisiológicas ocorreram no estágio de desenvolvimento fenológico R₁ (Ritchie et al., 1993), no qual, para cada análise, foram amostrados o terço médio das folhas de 10 plantas competitivas da parcela útil. As análises não destrutivas de índice SPAD e amostras para análises das trocas gasosas foram realizadas entre o período de 8:00 e 10:00 h da manhã. Para a análise nutricional, os terços médios foliares foram coletados e acondicionados em sacos de papel e levados para estufa de circulação forçada de ar a 60 °C, até atingirem massa constante (Malavolta et al., 1997). O material foi moído em armazenado até proceder

as análises em laboratório. Para as análises de pigmentos fotossintéticos, atividade enzimática da nitrato redutase e da Rubisco, os terços médios foram acondicionados em tubos falcon e transportados em galão de nitrogênio líquido até o laboratório, onde permaneceram armazenadas a -80 °C até procederem as respectivas análises.

3.4.1 *Diagnose foliar*

A concentração de N foi determinada após a digestão sulfúrica seguida pelo método Semi Micro Kjeldahl (Kirk, 1950). Os demais nutrientes (P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, B, Cu, Zn) foram determinados após a digestão nitroperclórica e seguido por espectrofotometria de absorção atômica (Malavolta et al., 1997).

3.4.2 *Atividade da Redutase do Nitrato*

As folhas foram maceradas em nitrogênio líquido e adicionadas a um tampão de extração contendo 25 mM Tris-HCl (pH 8,5), 1 M EDTA, DTT 1 mM, BSA 1%, 20 μ M FAD e 200 μ M leupetina. Após centrifugação e filtração, foram adicionadas alíquotas do sobrenadante a microtubos contendo um tampão de reação à base de MgCl₂. O extrato foi incubado e a reação foi interrompida com a adição de acetato de zinco. O sobrenadante foi centrifugado novamente e o nitrito formado foi determinado por técnica colorimétrica (Hageman; Reed, 1980).

3.4.3 *Índice SPAD e Pigmentos fotossintéticos*

O índice SPAD foi obtido através de análise não destrutiva, utilizando o medidor de clorofila SPAD 502 (Konica Minolta®). Para a determinação dos pigmentos fotossintéticos (Chl *a*, Chl *b* e carotenoides), três discos de 0,5 cm foram cortados utilizando uma punção de papel (Lichtenthaler, 1987). As leituras de absorbância foram realizadas por espectrofotômetro em três comprimentos de onda diferentes, 664, 647 e 480 nm, para determinar Chl *a*, Chl *b* e carotenoides, respectivamente. Os cálculos para as determinações dos pigmentos fotossintéticos foram realizados com base nos métodos de Wellburn (1994).

3.4.4 *Atividade fotossintética*

Os parâmetros de trocas gasosas foram avaliados por meio de um dispositivo portátil de troca gasosa (analisador de gás infravermelho LI-6400 (IRGA), LI-COR Biosciences Inc., Lincoln, NE, EUA). O aparelho estava configurado com os seguintes padrões: concentração de CO₂ atmosférico com variação de 380-400 μ mol mol⁻¹, Radiação fotossinteticamente ativa (PAR): 1100 μ mol quanta m⁻² s⁻¹ (Lâmpadas LED),

temperatura da câmara foliar: 25-27 ° C e 60 –70% UR. Os seguintes parâmetros foram medidos: fotossíntese líquida, A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática, g_s ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 , C_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), transpiração, E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), eficiência do uso de água, WUE ($\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$) e eficiência da carboxilação, A/C_i .

3.4.5 Atividade da Rubisco

A atividade da Ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) foi mensurada segundo método descrito por Degl'Innocenti et al., 2002) no qual a atividade enzimática foi medida espectrofotometricamente pela taxa de oxidação do NADH em comprimento de onda de 340 nm (Reid et al., 1997). A diferença nas leituras da absorbância entre os tempos 0 e 1 min (sem remover a cubeta do espectrofotômetro) determinaram a atividade da Rubisco, tendo os resultados expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}$ de proteína $^{-1}$.

3.4.6 Atividade antioxidante

A peroxidação lipídica foi avaliada de acordo com o método de Heath e Packer (Heath; Packer, 1968). Para calcular o conteúdo de MDA, um coeficiente de extração molar de $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ foi utilizado, e os resultados foram expressos em nano mols de MDA por grama de peso inicial (MF). O conteúdo de H_2O_2 foi determinado de acordo com o método de Alexieva et al. (2001). O conteúdo foi calculado com base em uma curva de calibração e expresso em micromoles de H_2O_2 por grama de massa seca. As extrações para análise enzimática foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Silva et al. (Silva et al., 2020). A atividade da SOD foi avaliada conforme descrito por Giannopolitis e Ries (1977) e os resultados foram expressos em unidades (U) de SOD por miligrama de proteína. A atividade da catalase foi avaliada conforme descrito por Azevedo et al. (1998) e os resultados foram expressos em micromoles por minuto por miligrama de proteína.

3.5 Componentes de produção e produtividade

Na ocasião da maturação fisiológica procedeu-se a mensuração da altura de plantas (cm) em dez plantas da área útil. Posteriormente as plantas de uma área útil de 15 m^2 foram colhidas e 10 espigas representativas da parcela foram avaliadas quanto ao número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira, número de grãos por espiga, massa de cem grãos (g). A produtividade de grãos com base na colheita

da área útil, com umidade corrigida para 13% de umidade e resultados expressos em kg ha^{-1} .

3.6 Teor de proteínas nos grãos

O processo de extração das diferentes proteínas ocorreu conforme descrito por Chen et al. (2018) a partir de 0,1 g de amostra de farinha de milho moída. Para a extração de Albumina, utilizou-se 1,0 ml de solvente contendo tampão Tris-HCl 10 mM (pH 7,5); para a extração de Globulina, utilizou-se 1,0 ml de solvente contendo NaCl 1 M; para a extração de Prolamina, utilizou-se 60% n-propanol contendo 1 mM EDTA-2Na; e para a extração de Gluteína, utilizou-se NaOH 0,05 M. A mistura foi agitada por 2 horas à temperatura ambiente e os extratos foram separados dos resíduos por centrifugação a 12.000 rpm por 15 minutos a 4 °C. Esse procedimento foi repetido três vezes e os extratos foram armazenados a -20 °C até análise posterior. A quantidade de cada proteína foi determinada pelo método de ligação do corante azul brilhante G-250 de Coomassie, utilizando albumina sérica bovina como padrão (Bradford, 1976). A análise quantitativa foi realizada utilizando Infinite M200 (Tecan Group, Männedorf, Suíça) conforme descrito por Peng et al. (2014).

3.7 Análise estatística

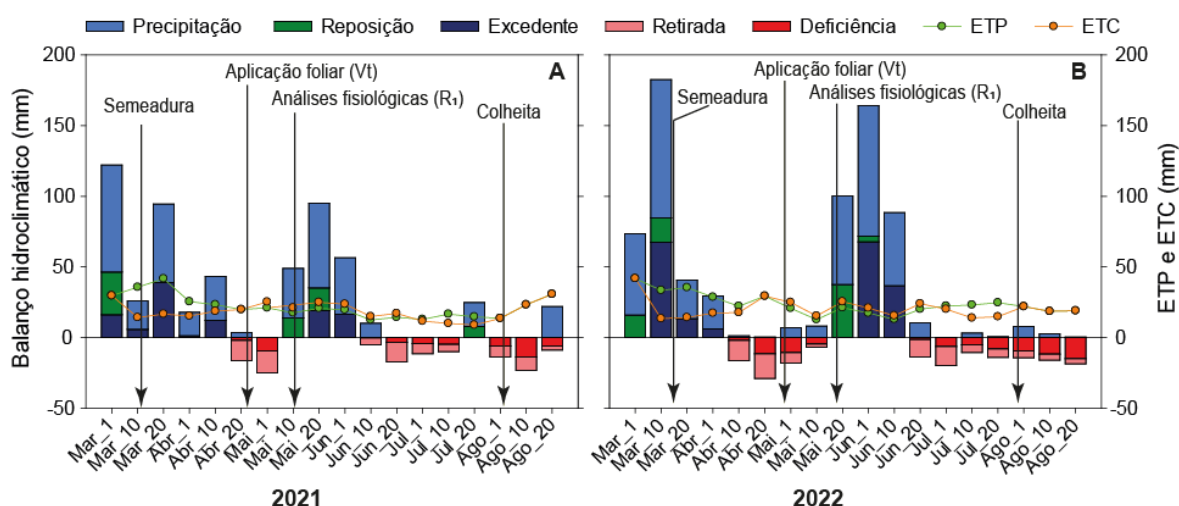
Inicialmente os dados foram testados quando à normalidade e à homoscedasticidade por meio dos testes Shapiro-Wilk (Shapiro; Wilk, 1965) e Levene (Levene, 1960), respectivamente. Após atender a estes pressupostos, os dados foram submetidos à análise de variância fatorial (ANOVA) pelo teste F. A Interação entre as safras x aplicações foliares não foi significativa ($p \leq 0,05$) para nenhuma das variáveis (Tabela 1, Anexo 1). Assim, a média das safras foi combinada e a média dos tratamentos foi testada pelo teste LSD ($p \leq 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 Balanço hidroclimático

O balanço hidroclimático evidenciou longos períodos de déficit hídrico em ambas as safras de cultivo, contudo, a restrição hídrica foi mais pronunciada na safra de 2021, cuja precipitação acumulada durante o cultivo foi de 288 mm, havendo déficit hídrico entre os estágios fenológicos VT/R₁ e R₃ a R₅ (Fig. 1 a). Na safra de 2022, a distribuição de chuvas foi similar ao ano anterior, embora o acúmulo da precipitação tenha atingido 386 mm. Os períodos de déficit hídrico ocorreram entre os estágios de desenvolvimento V₈ a Vt e R₃ a R₆, períodos estes, críticos para o estágio reprodutivo (Fig. 1 b).

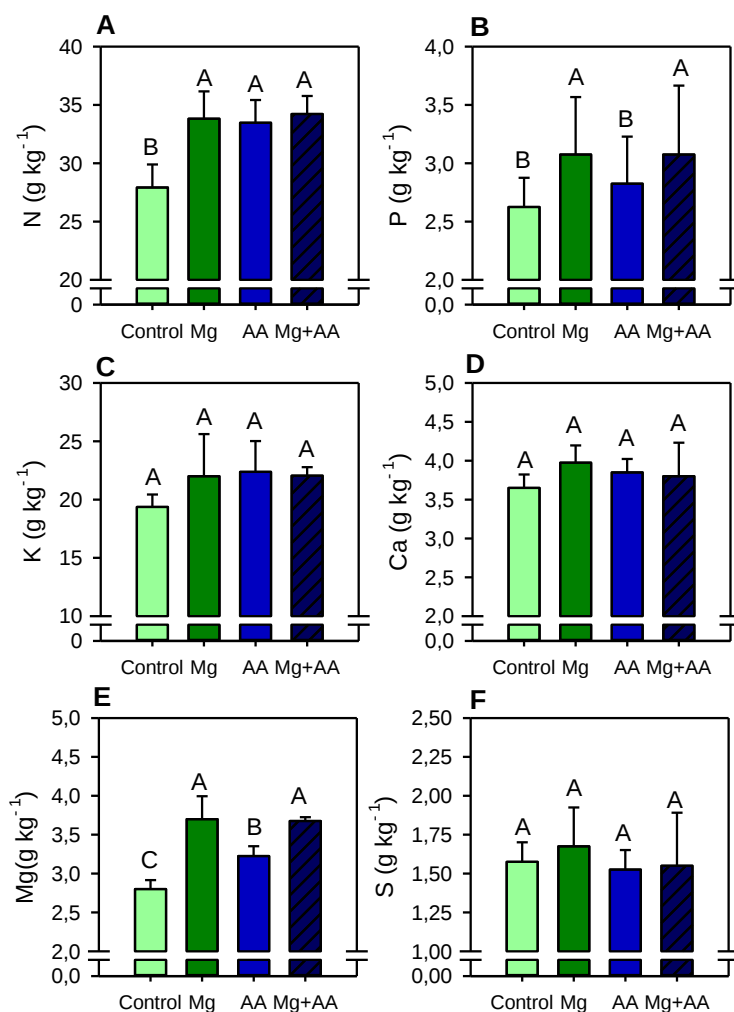
Figura 1 – Balanço hidroclimático referente às safras de milho de segunda safra nos anos de 2021 (a) e 2022 (b) no município de Botucatu-SP. ETP: evapotranspiração potencial, ETC: evapotranspiração da cultura.



4.2 Status nutricional foliar e atividade da Nitrato redutase

Dentre os macronutrientes, apenas o teor foliar de nitrogênio (N), magnésio (Mg) e fósforo foram alterados positivamente pelas aplicações foliares (Figura 2, A). As aplicações de Mg²⁺, AA e Mg²⁺+AA proporcionaram incrementos de 21, 20 e 23% nos teores foliares de N em relação ao controle, respectivamente. De modo semelhante, os teores de Mg foram aumentados em 31, 14 e 31% com as aplicações de Mg²⁺, AA e Mg²⁺+AA comparados ao controle, respectivamente (Figura 2, B). Apenas a aplicação de Mg²⁺ e Mg²⁺+AA produziram efeito significativo sobre o teor de P, incrementando-o em 17 e 17,5%, respectivamente.

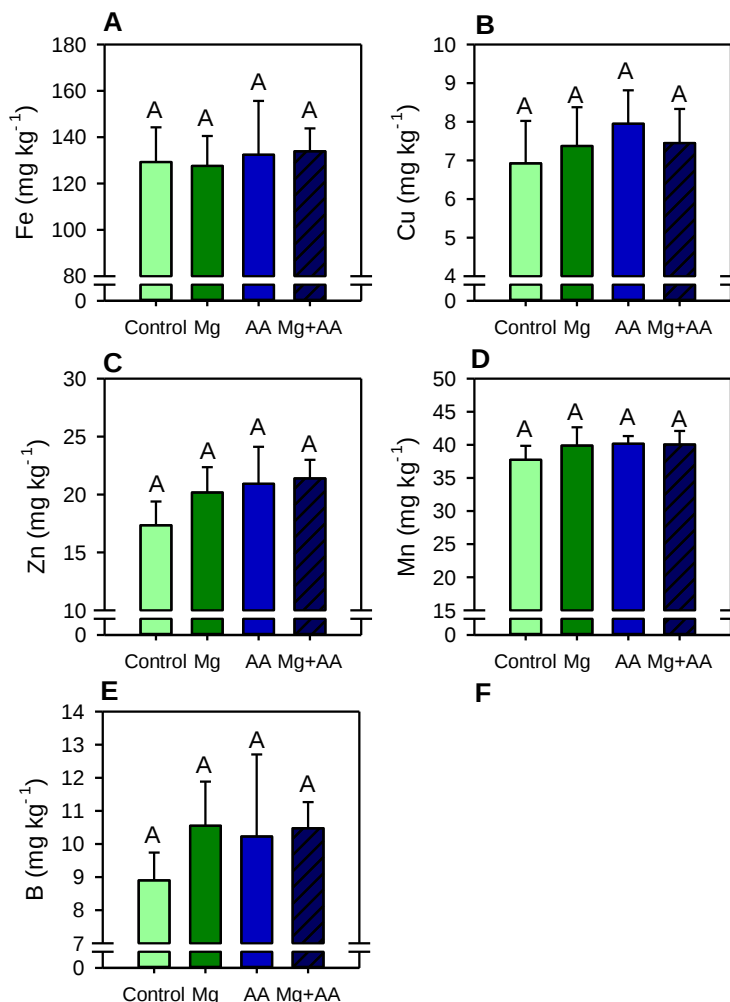
Figura 2 – Teores foliares de macronutrientes em plantas de milho sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos (AA). N (a), P (b), K (c), Ca (d), Mg (e), e S (f).



Valores médios das safras de cultivo de 2021 e 2022, Botucatu-SP, Brasil. Barras seguidas por letras diferentes, diferem entre si segundo o teste LSD ($p < 0,05$). Barras de desvio indicam desvio padrão ($n=8$).

Os teores de micronutrientes não foram afetados ($p < 0,05$) pelas aplicações foliares isoladas ou conjunta de Mg^{2+} e AA (Figura 3). Os teores foliares médios de Fe, Cu, Zn, Mn e B foram: 130,8; 7,4; 20,0; 39,5; 10,0 $mg\ kg^{-1}$ respectivamente.

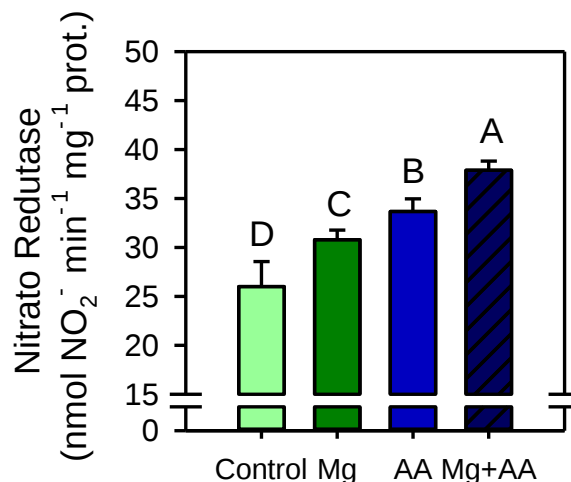
Figura 3 – Teores foliares de micronutrientes em plantas de milho sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos (AA). Fe (a), Cu (b), Zn (c), Mn (d), B (e)



Valores médios das safras de cultivo de 2021 e 2022, Botucatu-SP, Brasil. Barras seguidas por letras diferentes, diferem entre si segundo o teste LSD ($p<0,05$). Barras de desvio indicam desvio padrão ($n=8$).

Houve incremento da atividade da enzima Nitrato Redutase (NR) sob todas as aplicações foliares (Figura 4). A aplicação isolada de Mg^{2+} proporcionou incremento de 18% em relação ao controle, enquanto a aplicação de AA incrementou a atividade da NR em 29%, respectivamente. Contudo, a aplicação conjunta destes elementos ($Mg^{2+} + AA$) incrementaram a atividade da NR em 45% comparado ao controle.

Figura 4 – Atividade da enzima nitrato redutase em folhas de plantas de milho sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos (AA).

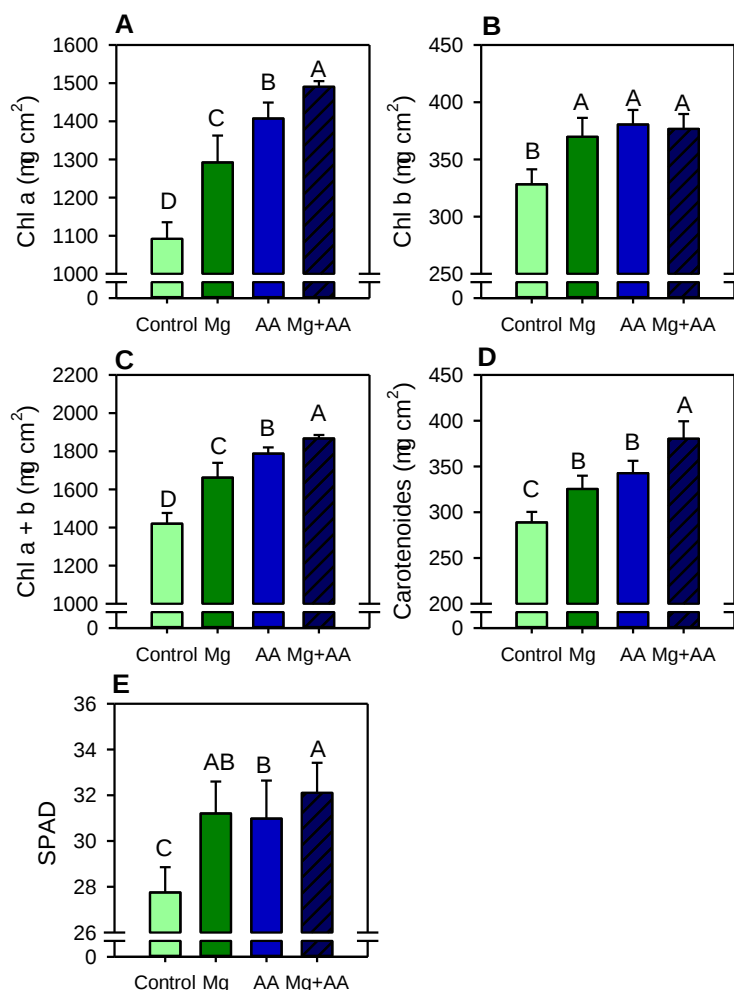


Valores médios das safras de cultivo de 2021 e 2022, Botucatu-SP, Brasil. Barras seguidas por letras diferentes, diferem entre si segundo o teste LSD ($p < 0,05$). Barras de desvio indicam desvio padrão ($n=8$).

4.3 Índice Spad e pigmentos fotossintéticos

Os pigmentos fotossintéticos foram incrementados pelas aplicações isoladas ou conjunta de Mg^{2+} + AA (Figura 5). Os teores de Chl a, aumentaram ~18% com a aplicação foliar de Mg^{2+} , ~18% com a aplicação de AA, e 37% com a aplicação conjunta de Mg^{2+} + AA comparado ao controle, respectivamente (Figura 5, A). Quanto à Chl b, todos os tratamentos foram em média 14% superiores ao controle, e não diferiram entre si (Figura 5, B). Os teores totais de clorofila, Chl a + b obtiveram melhor resultado sob aplicação conjunta de Mg^{2+} + AA, sendo 31% superior ao controle (Figura 5, C). Em seguida, a aplicação de AA proporcionou um acréscimo de 26% e, por fim, a aplicação de Mg^{2+} incrementou o teor de Chl a+b em 17%, comparado ao controle, respectivamente.

Figura 5 – Clorofila a, Chl a (a); Clorofila b, Chl b (b); Clorofila a + b, Chl a+b (c); carotenóides (d) e índice SPAD (e) em folhas de plantas de milho sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos (AA).



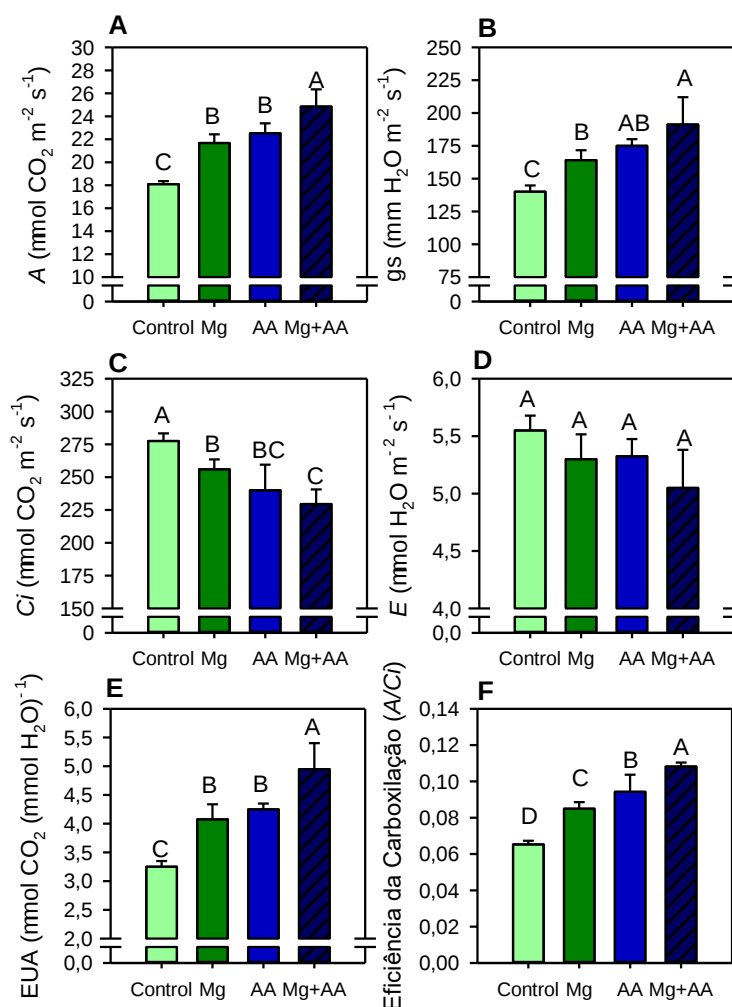
Valores médios das safras de cultivo de 2021 e 2022, Botucatu-SP, Brasil. Barras seguidas por letras diferentes, diferem entre si segundo o teste LSD ($p < 0,05$). Barras de desvio indicam desvio padrão ($n=8$).

De modo semelhante, a aplicação conjunta de Mg^{2+} + AA também proporcionaram as maiores concentrações de carotenóides nas folhas de milho (Figura 5, D), atingindo incremento de 32% em relação ao controle. Em seguida, os tratamentos AA e Mg^{2+} alcançaram incrementos relativos de 19 e 13%, respectivamente. Por fim, a aplicação conjunta de Mg^{2+} + AA proporcionou os maiores incrementos de índice SPAD (15%) relativos ao controle, mas não diferiu da aplicação isolada de Mg^{2+} , que por sua vez, incrementou em 12,6% em relação ao controle. A aplicação de AA foi superior ao controle (11,7%), mas inferior à aplicação de Mg^{2+} + AA (4%).

4.4 Trocas gasosas

De modo geral, os parâmetros de trocas gasosas foram influenciados positivamente pela aplicação conjunta de Mg^{2+} + AA, seguido pela aplicação isolada de AA e por fim de Mg^{2+} . A taxa de fotossíntese líquida A (Figura 6, A) aumentou em 37% sob aplicação Mg^{2+} +AA, comparado ao controle. Em seguida, as aplicações isoladas de Mg^{2+} e AA aumentaram 20 e 24% respectivamente, embora não tenham diferido entre si.

Figura 6 – Parâmetros fotossintéticos em folhas de milho: fotossíntese líquida, A (a); condutância estomática, g_s (b); concentração de CO_2 na câmara subestomática, C_i (c); transpiração foliar, E (d); eficiência do uso da água, EUA (e); eficiência da carboxilação (f) sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e Aminoácidos (AA).



Valores médios das safras de cultivo de 2021 e 2022, Botucatu-SP, Brasil. Barras seguidas por letras diferentes, diferem entre si segundo o teste LSD ($p < 0,05$). Barras de desvio indicam desvio padrão ($n=8$).

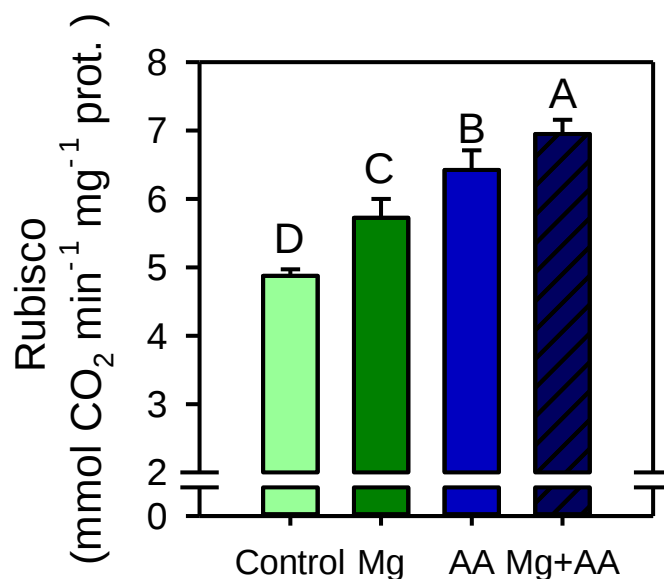
O Tratamento combinado, $Mg^{2+}+AA$, proporcionou a maior condutância estomática observada (36%) a menor concentração interna de CO_2 na câmara subestomática, C_i (17%) em relação ao tratamento controle, indicando uma efetiva assimilação de CO_2 a partir dos parâmetros de trocas gasosas (Figura 6, B, C). Os tratamentos isolados de Mg^{2+} e AA alcançaram valores intermediários, com incremento médio de g_s de 21% e redução do C_i em 11% em relação ao controle. A transpiração, E , não foi alterada pelo manejo, mas a elevação de A permitiu um aumento da eficiência do uso da água, EUA, de 25% sob aplicação de Mg^{2+} , em relação ao controle (Figura 6, D, E). A aplicação de AA produziu efeitos semelhantes, elevando EUA em 30% e a aplicação conjunta de $Mg^{2+} + AA$ 52%, respectivamente.

A eficiência da carboxilação (A/C_i), aumentou em todos os cenários de aplicação, Mg^{2+} e AA isolados ou em conjunto, evidenciando o papel de ambos os produtos na melhoria da atividade fotossintética (Fig 6, F). A aplicação de Mg^{2+} aumentou A/C_i em 30% comparado ao controle. Similarmente, a pulverização com AA aumentou A/C_i em 44%. Quando aplicados conjuntamente, o incremento relativo ao controle foi de 66%.

4.5 Atividade da Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco)

A atividade da Rubisco foi incrementada em todos os cenários (Figura 7). Os incrementos atingiram 18% quando aplicado Mg^{2+} isoladamente. A aplicação de AA proporcionou incremento de 31%, enquanto a aplicação conjunta, proporcionou incremento de 42% em relação ao controle.

Figura 7 – Atividade da Rubisco em folhas de plantas de milho sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos (AA).



Valores médios das safras de cultivo de 2021 e 2022, Botucatu-SP, Brasil. Barras seguidas por letras diferentes, diferem entre si segundo o teste LSD ($p < 0,05$). Barras de desvio indicam desvio padrão ($n=8$).

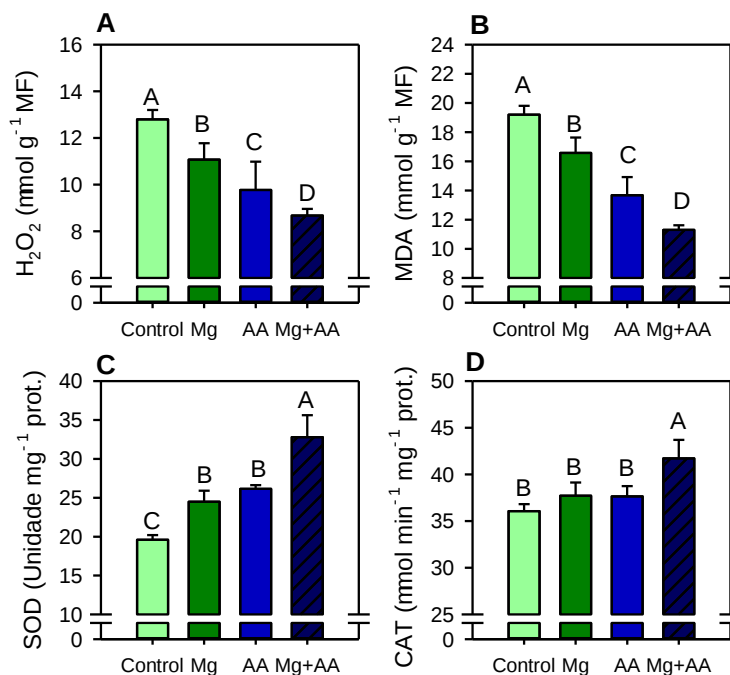
4.6 Atividade enzimática: enzimas antioxidantes

As pulverizações foliares foram eficientes em aumentar a atividade antioxidante, no qual pode ser observada pela redução de espécies reativas de oxigênio (ERO's) e aumento da atividade de enzimas antioxidantes (Figura 8). Neste sentido, H_2O_2 obteve uma redução de 14% quando aplicado Mg^{2+} em relação ao controle. A aplicação de AA reduziu ainda mais a concentração de H_2O_2 , atingindo 24%. E ainda, a aplicação conjunta de Mg^{2+} +AA potencializou o efeito antioxidante, reduzindo a concentração de H_2O_2 em 32% em relação ao controle. A concentração de MDA também foi reduzida, havendo uma queda de 14% com a aplicação de Mg^{2+} , 29% sob aplicação de AA e 41% sob aplicação conjunta (Mg^{2+} +AA) comparado ao controle, respectivamente (Figura 8, B).

À medida em que a concentração de H_2O_2 e MDA decresceram, a atividade de SOD e CAT aumentaram, tendo os melhores resultados quando Mg^{2+} +AA foram aplicados conjuntamente (Fig 8). Neste tratamento, a atividade de SOD aumentou

67%, enquanto a atividade da CAT aumentou 16%, em relação ao controle, respectivamente (Figura 8, C, D).

Figura 8 – Concentração de Peróxido de hidrogênio, H_2O_2 (a), malondialdeído, MDA (b), superóxido dismutase, SOD (c) e catalase (d) em folhas de milho sob influência da aplicação de Magnésio (Mg^{2+}) e aminoácidos.



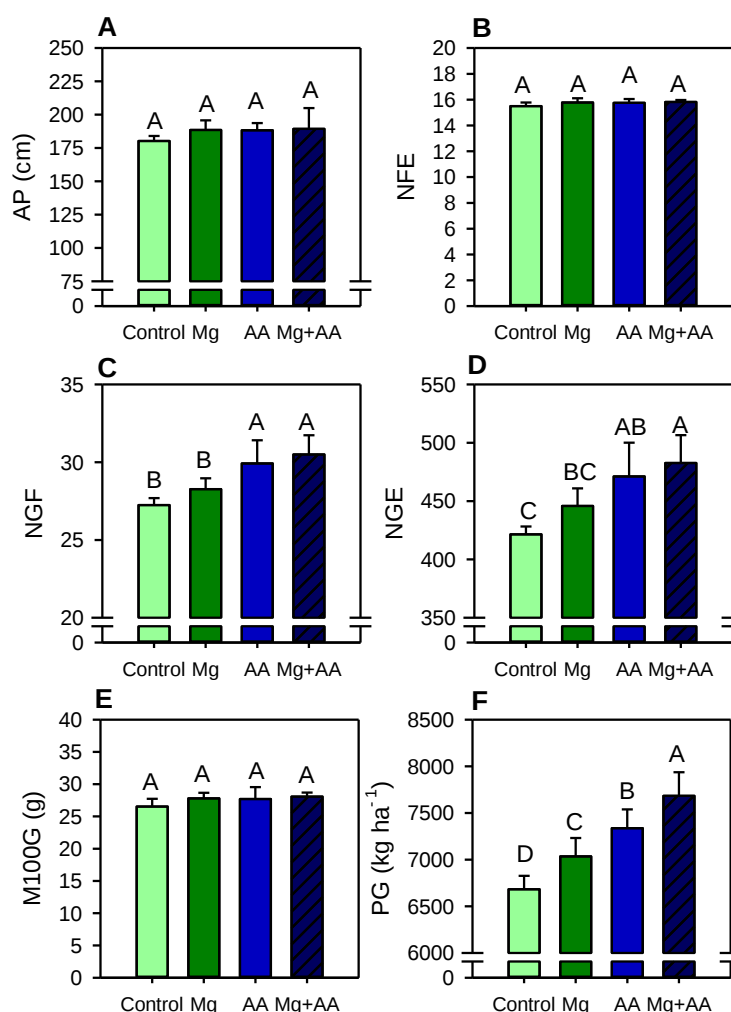
Valores médios das safras de cultivo de 2021 e 2022, Botucatu-SP, Brasil. Barras seguidas por letras diferentes, diferem entre si segundo o teste LSD ($p < 0,05$). Barras de desvio indicam desvio padrão ($n=8$).

4.7 Componentes de produção e produtividade de grãos

Como resultado do incremento nutricional, da atividade fotossintética e antioxidante, observou-se incremento significativo dos componentes de produção e produtividade de grãos (Figura 9). Apesar de altura de plantas e número de fileiras por espiga não serem alteradas com as pulverizações foliares (Figura 9 A, B), o NGF aumentou em média 9% com a pulverização de AA e 11% com a aplicação de Mg^{2+} +AA, em relação ao controle (Figura 9 C). Este, por sua vez, provocou um aumento de 15% no NGE, o que culminou em um aumento de, também, 15% na produtividade de grãos, PG, comparado ao controle, respectivamente (Figura 9 D, F). Em média, o incremento proporcionado pela aplicação de Mg^{2+} +AA equivale 1001,7 kg ha⁻¹ comparado ao controle. Em seguida, a aplicação isolada de AA proporcionou

um aumento de 654,8 kg ha⁻¹, e, por último, o tratamento Mg²⁺ forneceu um incremento 353,5 kg ha⁻¹ em relação ao controle, respectivamente. Apesar do aumento do número de grãos, M100G não foi influenciado pelas aplicações foliares.

Figura 9 – Altura de plantas (a) e Componentes de produção: número de fileiras por espiga (b) número de grãos por fileira (c), número de grãos por espiga (d) massa de cem grãos (M100G) (e) e produtividade de grãos (f) de milho sob influência da aplicação de Magnésio (Mg²⁺) e aminoácidos.



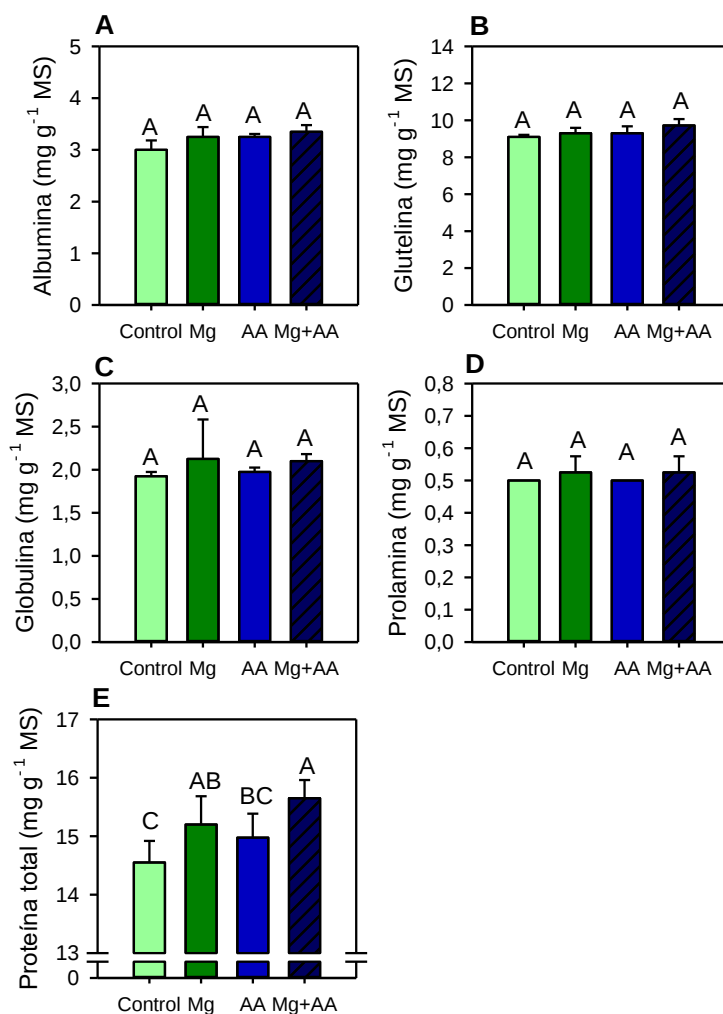
Valores médios das safras de cultivo de 2021 e 2022, Botucatu-SP, Brasil. Barras seguidas por letras diferentes, diferem entre si segundo o teste LSD ($p < 0,05$). Barras de desvio indicam desvio padrão ($n=8$).

4.8 Proteínas nos grãos

De modo geral, os teores individuais de proteínas nos grãos não foram alterados ($p < 0,05$) pela aplicação foliar de Mg²⁺ e AA. (Fig 10). Em média, os teores

de albumina nos grãos foram: 3,2 mg g⁻¹ MS, glutelina: 9,2 mg g⁻¹ MS, globulina: 2,0 mg g⁻¹ MS, prolamina: 0,5 mg g⁻¹ MS. Apesar disso, os pequenos acréscimos individuais proporcionados pelas aplicações foliares proporcionaram incrementos de 4,6% e 7,6% com a aplicação de Mg²⁺ e Mg²⁺AA, em relação ao controle, respectivamente.

Figura 10 – Concentração de Albumina (a), Glutelina (b), Globulina (c), Prolamina (d), e proteína total (e) em grãos de milho sob influência da aplicação de Magnésio (Mg²⁺) e aminoácidos.



Valores médios das safras de cultivo de 2021 e 2022, Botucatu-SP, Brasil. Barras seguidas por letras diferentes, diferem entre si segundo o teste LSD ($p < 0,05$). Barras de desvio indicam desvio padrão ($n=8$).

5 DISCUSSÃO

O cultivo de milho em segunda safra é frequentemente ameaçado por intempéries climáticas como temperatura e disponibilidade hídrica. Durante a condução do experimento de milho de segunda safra nos anos de 2021 e 2022 foram observados períodos consideravelmente longos de ausência de precipitação pluvial, o que culminou em déficit hídrico em estágios decisivos na definição do número de grãos por espiga e enchimento de grãos (Fig. 1). Neste estudo, foi demonstrado o papel da aplicação foliar de aminoácidos (AA) e de Magnésio (Mg^{2+}) como estimulantes do metabolismo do nitrogênio, do carbono e antioxidante, culminando em aumento da produtividade de grãos mesmo sob condições climáticas adversas.

Papel do Mg^{2+} e AA sobre o metabolismo de macro e micronutrientes

Os teores foliares de Mg já se encontravam dentro da faixa considerada adequada para a cultura do milho [$2,5 \text{ g kg}^{-1}$ (Novais et al., 2007)], ainda assim, a aplicação foliar, principalmente, de Mg^{2+} suplementou estes teores, partindo de $2,8 \text{ g kg}^{-1}$ (controle) para $3,7 \text{ g kg}^{-1}$ (Mg^{2+} ou $Mg^{2+}+AA$). A efetividade da aplicação de Mg^{2+} via foliar se deve à sua rápida absorção pelas folhas e mobilidade pelo floema (Altarugio et al., 2017). Além disso, a aplicação de $Mg^{2+} + AA$ também elevou os teores de N em folhas de milho para a faixa considerada adequada [30 g kg^{-1} (Novais et al., 2007)]. O Mg^{2+} é conhecido por atuar no metabolismo do N, pois regula genes que codificam as isoenzimas da glutamina sintetase (CsGSs), enzima esta, essencial para a assimilação de N pela planta ao catalisar a reação de ligação do amônio (NH_4^+) ao glutamato, formando a glutamina (Zhang et al., 2023).

A aplicação de AA constitui uma fonte orgânica de N o que pode explicar, pelo menos em parte, o aumento de N foliar em plantas de milho, como sugerido por diversos autores (Jones, 2002; Vinall et al., 2012; Shanthi et al., 2018). Contudo, um estudo demonstrou que a quantidade de N fornecida pela aplicação de aminoácidos via foliar representa menos de 1% da quantidade de aminoácidos já presentes nas folhas (Teixeira et al., 2017). Assim, Teixeira et al. (2018) sugeriram que a aplicação de aminoácidos atue como moléculas sinalizadoras em diferentes processos metabólicos, culminando em maior assimilação de N pela planta.

O papel do Mg^{2+} e de AA sobre o metabolismo do N pode estar associado à uma importante via de assimilação, a redução do nitrato. Esta reação é catalisada pela

nitrato redutase (NR) que converte nitrato a nitrito (Lu et al., 2016). Neste estudo, a atividade da nitrato redutase aumentou sob aplicação isolada e, principalmente, conjunta de Mg^{2+} e de AA. O fornecimento de AA pode atuar em diversos sítios para aumentar a atividade desta enzima, como a síntese de proteínas/enzimas precursoras, ou aumento da energia disponível para a ativação desta enzima, através da melhoria da fotossíntese, como sugerido por Teixeira et al. (2018). Além disso, resíduos de aminoácidos como Cys, Arg, Lys, Ser, Tyr e Asp estão presentes na estrutura do cofator molibdênio (MoCo), sítio ativo da NR, no qual podem desempenhar papéis como estabilizadores desta molécula ou catalizadores na reação de redução (Coelho; Romão, 2015).

A NR é ativada por fatores ambientais como presença de nitrato, luz ou concentração CO_2 (Bucher; Kossmann, 2007). O aumento da atividade de NR sob aplicação de Mg^{2+} pode estar relacionado ao seu papel indireto: atuando à jusante, consumindo amônia (NH_3) através da ativação da glutamato sintetase (Marschner, 2011), uma vez que o acúmulo de NH_3 pode regular negativamente a atividade da NR (Kavoosi et al., 2014); ou mediante o aumento da assimilação CO_2 (Marschner, 2011).

Os resultados ainda mostram uma maior participação do Mg^{2+} sobre os teores de P foliar, uma vez que a aplicação de Mg^{2+} +AA não diferiu da aplicação isolada de Mg^{2+} . Uma relação sinérgica Mg-P foi sugerida, podendo estar relacionada ao maior desenvolvimento radicular promovido por ambos os elementos (Weih et al., 2021).

Mg²⁺ e AA atuam em diferentes sítios do metabolismo fotossintético

De modo geral, a pulverização de Mg^{2+} e AA foi eficiente em aumentar atividade fotossintética (Figuras 4, 5, 6). Inicialmente, Mg^{2+} e AA aumentaram os teores de Chl a, b, Chl totais e carotenóides. O Mg^{2+} é componente estrutural da clorofila (Ling et al., 2011), enquanto aminoácidos como Gly, Glu e Ser são precursores na síntese da clorofila (Chatterjee; Kundu, 2015). De modo geral, o índice SPAD foi capaz de refletir as alterações observadas nos pigmentos fotossintéticos. O índice SPAD, correlaciona-se positivamente com o teor de clorofila e N nas folhas, sendo um método prático e não destrutivo de determinação (Ling et al., 2011).

Os parâmetros fotossintéticos também foram alterados mediante a suplementação de Mg^{2+} e AA, no qual observou-se um aumento da condutância estomática, g_s , e uma redução do CO_2 na câmara subestomática, C_i . Uma maior g_s permite que uma maior

concentração de CO_2 se difunda para esse compartimento, logo, a redução de C_i , acompanhado pelo aumento da atividade da Rubisco indica que o CO_2 foi efetivamente assimilado, culminando em maior fotossíntese líquida, A . Assim, com o aumento de A e redução de C_i , observa-se aumento na eficiência da carboxilação, A/C_i . As taxas de transporte de elétrons normalmente são influenciadas pela abundância de clorofila (Perchlik; Tegeder, 2018). Além disso, resíduos de aminoácidos como Ala, Gly e Ser atuam no centro catalítico da Rubisco (ALLEN et al., 2012), e sua ativação pode ser regulada por um resíduo essencial de Lys que é subsequentemente estabilizado por um íon Mg^{2+} formando um complexo cataliticamente ativo (Portis; Parry, 2007). Assim, com base nos incrementos observados no conteúdo de clorofila, na atividade da Rubisco e na fotossíntese líquida, podemos inferir que a aplicação de Mg^{2+} e AA, principalmente quando combinados, exerceu um papel crítico no aprimoramento das etapas fotoquímicas e bioquímicas da fotossíntese.

Como resultado do aumento de A e estabilidade da transpiração, E , observou-se aumento da eficiência intrínseca do uso da água, EUA (em nível de folha), indicando que a planta foi capaz de equilibrar a assimilação de CO_2 sem que houvesse aumento da perda de água pela planta. Este resultado é particularmente importante, sugerindo que a aplicação de Mg^{2+} e AA podem melhorar a tolerância das plantas de milho ao déficit hídrico, haja vista a ocorrência, neste experimento, de períodos de seca em estágios fenológicos críticos para definição da produtividade.

Atividade antioxidante exercida pela aplicação foliar de Mg^{2+} e AA

Um dos principais efeitos estudados quanto ao fornecimento exógeno de AA às plantas, diz respeito ao seu papel antioxidante (Teixeira et al., 2017; Haghighi et al., 2022). Em um estudo anterior, foi demonstrado que o Mg^{2+} é eficiente em melhorar a capacidade antioxidante de plantas de soja e milho (Rodrigues et al., 2021). Neste trabalho, investigou-se a capacidade do uso combinado de AA e Mg^{2+} em potencializar o efeito antiestresse em milho de segunda safra. Os resultados obtidos corroboram nossa hipótese, pois a maior redução de H_2O_2 e MDA foram observadas quando AA e Mg^{2+} foram aplicados conjuntamente. O decréscimo destas espécies reativas de oxigênio (ERO's) foi acompanhado de um aumento da atividade das enzimas antioxidantes, SOD e CAT. Foi observado que SOD respondeu significativamente às aplicações isoladas de AA e Mg^{2+} , mas sua atividade foi potencializada quando estes

produtos foram combinados. CAT foi menos responsiva em relação à SOD, tendo aumentado sua atividade ($p < 0,05$) apenas quando AA e Mg^{2+} foram combinados.

As SODs constituem a primeira linha de defesa contra as ERO's catalisando a conversão de $O_2^{\bullet-}$ em $H_2O_2 + O_2$, uma forma mais estável de ERO. A CAT, por sua vez, catalisa a reação de conversão de H_2O_2 em $H_2O + O_2$ (Gill et al., 2015; Stephenie et al., 2020). Portanto o trabalho conjunto destas enzimas é fundamental para que sejam evitadas a formação de ERO's mais danosas aos componentes celulares. A redução de MDA, um dos produtos da peroxidação lipídica e indicador de lesão celular (Grotto et al., 2008), corrobora a efetividade destas enzimas em eliminar as ERO's em níveis tóxicos.

Sob déficit hídrico, as plantas fecham seus estômatos para evitar a perda de água e consequentemente dificultam a entrada de CO_2 para a reação de redução. Esta situação é agravada sob Mg limitado, pois o carregamento no floema é prejudicado, e o acúmulo de sacarose tem uma regulação negativa sobre a reação de assimilação de CO_2 , reduzindo a capacidade de regeneração de $NADP^+$. Sem a regeneração eficiente dos sumidouros de elétrons, há uma redução excessiva da cadeia transportadora de elétrons levando a uma fotorredução de O_2 a $O_2^{\bullet-}$ (Cruz de Carvalho, 2008; Tränkner et al., 2016). Com base nisso, os resultados obtidos corroboram que a aplicação foliar Mg^{2+} teve um papel essencial em aliviar estes efeitos deletérios.

Os AA são importantes componentes no metabolismo antioxidante das plantas, e estão envolvidos na redução dos radicais livres (Teixeira et al., 2017). Gly, por exemplo, induz a produção de glicina betaína, cuja função envolve osmoproteção e sinalização do sistema antioxidante, ou glioxilato, envolvido na redução de H_2O_2 e produção de NADPH e ATP, durante a fotossíntese (Hu et al., 2012; Alhasawi et al., 2015). Cys foi relatada como eficiente em reduzir radicais livres em aumentar a atividade de CAT e fenilalanina amônia-liase (PAL), uma importante enzima do metabolismo secundário, cuja síntese se dá a partir de Phe (Azarakhsh et al., 2015). Glu está envolvido na síntese de prolina e arginina, envolvidos na osmoproteção (Gill; Tuteja, 2010). Assim, o efeito antioxidante observado após aplicação de AA pode ser atribuído a um efeito combinado destes aminoácidos sobre a maquinaria antioxidante.

Produtividade de grãos e proteínas nos grãos

A ocorrência de déficit hídrico durante o florescimento é crítica para a fecundação, pois provoca esterilidade do grão de pólen, limita a diferenciação da espiga, suprime o alongamento dos estilo-estigmas e, após a fertilização, induz o abortamento do grão. Um estudo revelou que a limitação de sacarose é um dos principais fatores que culminam no aborto de grãos, devido ao aumento da competição por fotoassimilados entre os grãos-irmãos (Shen et al., 2020). Outro recente estudo revelou que a viabilidade do grão de pólen é reduzida sob baixa atividade da sacarose sintase, e há uma correlação positiva entre viabilidade do pólen e concentração de carboidratos e seus derivados (Li et al., 2022). Os resultados obtidos indicam aumento do número de grãos por fileira e consequente número de grãos por espiga, mesmo sob déficit hídrico durante o florescimento, sugerindo que a melhoria do status nutricional, do metabolismo antioxidante e fotossintético pode ter contribuído para um maior status de carboidratos na planta durante o florescimento, culminando em maior taxa de pegamento, e, consequentemente em maior produtividade de grãos sob aplicação de Mg^{2+} e AA.

De modo geral, observou-se um maior efeito fisiológico promovido pela aplicação de AA quando comparado à aplicação de Mg^{2+} , contudo, os melhores resultados são encontrados sob aplicação combinada destes produtos, sugerindo um efeito complementar exercido pelo Mg^{2+} e AA em diversos processos metabólicos. Apesar da melhoria observada no metabolismo antioxidante e fotossintético das plantas de milho, a concentração individual de proteínas nos grãos não foi influenciada pelo fornecimento de Mg^{2+} e AA. Ainda que não significativo ($p < 0,05$) os pequenos acréscimos individuais contribuíram para a elevação do teor total de proteínas nos grãos, sendo influenciado, principalmente, pela aplicação $Mg^{2+}+AA$. O conteúdo de proteínas nos grãos tende a ser responsivo a um maior aporte de N na planta (Wan et al., 2023). Deste modo, é possível que o maior aporte de N influenciado pelas aplicações de Mg^{2+} e AA contribuíram para um maior incremento de proteína total nos grãos de milho, tornando-os mais nutritivos para a alimentação humana ou animal (Guimaraes; Pacheco, 1998).

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos confirmam que a aplicação de Mg^{2+} e AA é eficiente em melhorar o status nutricional, o metabolismo fotossintético e antioxidante de plantas de milho cultivados em segunda safra, em condições de déficit hídrico. Além disso, a aplicação combinada de Mg^{2+} e AA foi mais eficiente do que a aplicação isolada destes produtos por atuarem complementarmente em diversos processos metabólicos. Mesmo sob períodos de déficit hídrico, a suplementação de Mg^{2+} e AA pode manter a fertilização das espigas culminando em maior número de grãos e consequente aumento de produtividade de grãos.

REFERÊNCIAS

- ALEXIEVA, V. et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth; stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337–1344, 2001.
- ALHASAWI, A. et al. Glycine metabolism and anti-oxidative defence mechanisms in *Pseudomonas fluorescens*. **Microbiological Research**, v. 171, p. 26–31, fev. 2015.
- ALLEN, D. K. et al. Isotope labelling of Rubisco subunits provides *in vivo* information on subcellular biosynthesis and exchange of amino acids between compartments. **Plant, Cell & Environment**, v. 35, n. 7, p. 1232–1244, 24 jul. 2012.
- ALTARUGIO, L. M. et al. Yield performance of soybean and corn subjected to magnesium foliar spray. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 12, p. 1185–1191, dez. 2017.
- AZARAKHSH, M. R.; ASRAR, Z.; MANSOURI, H. Effects of seed and vegetative stage cysteine treatments on oxidative stress response molecules and enzymes in *Ocimum basilicum* L. under cobalt stress. **Journal of soil science and plant nutrition**, n. ahead, p. 0–0, 2015.
- AZEVEDO, R. A. et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, n. 2, p. 280–292, 1 out. 1998.
- BATISTA-SILVA, W. et al. The role of amino acid metabolism during abiotic stress release. **Plant, Cell & Environment**, v. 42, n. 5, p. 1630–1644, 7 maio 2019.
- BOSSOLANI, J. W. et al. Long-term liming improves soil fertility and soybean root growth, reflecting improvements in leaf gas exchange and grain yield. **European Journal of Agronomy**, v. 128, p. 126308, ago. 2021.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, maio 1976.
- BUCHER, M.; KOSSMANN, J. Molecular Physiology of the Mineral Nutrition of the Potato. Em: **Potato Biology and Biotechnology**. [s.l.] Elsevier, 2007. p. 311–329.
- CHATTERJEE, A.; KUNDU, S. Revisiting the chlorophyll biosynthesis pathway using genome scale metabolic model of *Oryza sativa japonica*. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 14975, 7 out. 2015.
- CHAUDHRY, A. H. et al. Current Understandings on Magnesium Deficiency and Future Outlooks for Sustainable Agriculture. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1819, 12 fev. 2021.
- CHEN, P. et al. Genetic Basis of Variation in Rice Seed Storage Protein (Albumin, Globulin, Prolamin, and Glutelin) Content Revealed by Genome-Wide Association Analysis. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 9 maio 2018.
- COELHO, C.; ROMÃO, M. J. Structural and mechanistic insights on nitrate reductases. **Protein Science**, v. 24, n. 12, p. 1901–1911, 22 dez. 2015.
- CONAB. **Boletim da Safra de Grãos: 10º Levantamento - Safra 2022/23**.
- CRUZ DE CARVALHO, M. H. Drought stress and reactive oxygen species. **Plant Signaling & Behavior**, v. 3, n. 3, p. 156–165, 28 mar. 2008.
- DANIEL, J. L. P. et al. Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. **Grass and Forage Science**, v. 74, n. 2, p. 188–200, 11 jun. 2019.

DEGL'INNOCENTI, E.; GUIDI, L.; SOLDATINI, G. F. Effect of chronic O₃ fumigation on the activity of some Calvin cycle enzymes in two poplar clones. **Photosynthetica**, v. 40, n. 1, p. 121–126, 2002.

DELLERO, Y. Manipulating Amino Acid Metabolism to Improve Crop Nitrogen Use Efficiency for a Sustainable Agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 30 nov. 2020.

DINKELOO, K.; BOYD, S.; PILOT, G. Update on amino acid transporter functions and on possible amino acid sensing mechanisms in plants. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 74, p. 105–113, fev. 2018.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5. ed. Brasília/DF: Embrapa Solos, 2018.

FERNÁNDEZ, V.; EICHERT, T. Uptake of Hydrophilic Solutes Through Plant Leaves: Current State of Knowledge and Perspectives of Foliar Fertilization. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 28, n. 1–2, p. 36–68, 19 mar. 2009.

FERNÁNDEZ V, S. T. B. P. **Foliar fertilization: scientific principles and field practices**. Paris: International Fertilizer Industry Association, 2013.

FERNÁNDEZ, V.; SOTIROPOULOS, T.; BROWN, P. **Adubação foliar: Fundamentos científicos e técnicas de campo**. São Paulo: Abisolo, 2015.

FORSUM, O. et al. Capacities and constraints of amino acid utilization in *Arabidopsis*. **New Phytologist**, v. 179, n. 4, p. 1058–1069, 6 set. 2008.

GALVÃO, J. C. C.; BORÉM, A.; PIMENTEL, M. A. **Milho: do plantio à colheita**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2017.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutases I. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1 fev. 1977.

GILL, S. S. et al. Superoxide dismutase—mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 14, p. 10375–10394, 30 jul. 2015.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, dez. 2010.

GOSS, J. A. Amino Acid Synthesis and Metabolism. Em: **Physiology of Plants and their Cells**. [s.l.] Elsevier, 1973. p. 183–204.

GROTTO, D. et al. Avaliação da estabilidade do marcador plasmático do estresse oxidativo: malondialdeído. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 275–279, 2008.

GUIMARAES, P. E. O. ;; PACHECO, C. A. P. O milho com alto valor nutricional. Em: GUIMARÃES, P. E. O. (Ed.). **WORKSHOP SOBRE QUALIDADE DO MILHO**. [s.l.] EMBRAPA-CPAO. Documentos, 23, 1998. p. 22–32.

GUO, N. et al. Function, transport, and regulation of amino acids: What is missing in rice? **The Crop Journal**, v. 9, n. 3, p. 530–542, jun. 2021.

HAGEMAN, R. H.; REED, A. J. [24] Nitrate reductase from higher plants. **Photosynthesis and Nitrogen Fixation - Part C**, v. 69, n. 1, p. 270–280, 1980.

HAGHIGHI, M.; BARZEGAR SADEGHABAD, A.; ABOLGHASEMI, R. Effect of exogenous amino acids application on the biochemical, antioxidant, and nutritional value of some leafy cabbage cultivars. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 17720, 21 out. 2022.

HE, H. et al. Changes of plant biomass partitioning, tissue nutrients and carbohydrates status in magnesium-deficient banana seedlings and remedy potential by foliar application of magnesium. **Scientia Horticulturae**, v. 268, p. 109377, jun. 2020.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189–198, 1 abr. 1968.

HEINEMANN, B.; HILDEBRANDT, T. M. The role of amino acid metabolism in signaling and metabolic adaptation to stress-induced energy deficiency in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 72, n. 13, p. 4634–4645, 22 jun. 2021.

HU, L. et al. Exogenous Glycine Betaine Ameliorates the Adverse Effect of Salt Stress on Perennial Ryegrass. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 137, n. 1, p. 38–46, jan. 2012.

HURA, T.; HURA, K.; OSTROWSKA, A. Drought-Stress Induced Physiological and Molecular Changes in Plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, p. 4698, 24 abr. 2022.

HUTCHINSON, H. B.; MILLER, N. H. J. The Direct Assimilation of Inorganic and Organic Forms of Nitrogen by Higher Plants. **The Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 3, p. 282–302, 27 jan. 1912.

ISHFAQ, M. et al. Physiological Essence of Magnesium in Plants and Its Widespread Deficiency in the Farming System of China. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 25 abr. 2022a.

ISHFAQ, M. et al. Foliar nutrition: Potential and challenges under multifaceted agriculture. **Environmental and Experimental Botany**, v. 200, p. 104909, ago. 2022b.

JEPPSEN, R. Advantages of metal amino acid chelates in foliar absorption. Em: **Proc. Albion" s Int. I Conf. on Plant Nutrition**. [s.l: s.n.]. p. 16–28.

JONES, D. Soil amino acid turnover dominates the nitrogen flux in permafrost-dominated taiga forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, n. 2, p. 209–219, fev. 2002.

KADOTANI, N. et al. Exogenous proteinogenic amino acids induce systemic resistance in rice. **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 60, 3 dez. 2016.

KANJANA, D. Foliar application of magnesium oxide nanoparticles on nutrient element concentrations, growth, physiological, and yield parameters of cotton. **Journal of Plant Nutrition**, v. 43, n. 20, p. 3035–3049, 13 dez. 2020.

KARLEY, A. J.; WHITE, P. J. Moving cationic minerals to edible tissues: potassium, magnesium, calcium. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n. 3, p. 291–298, jun. 2009.

KAVOOSI, G. et al. Analysis of nitrate reductase mRNA expression and nitrate reductase activity in response to nitrogen supply. **Molecular biology research communications**, v. 3, n. 2, p. 75–84, jun. 2014.

KIBRIA, M. G.; BARTON, L.; RENGEL, Z. Foliar application of magnesium mitigates soil acidity stress in wheat. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 207, n. 2, p. 378–389, 29 abr. 2021.

KIRK, P. L. Kjeldahl Method for Total Nitrogen. **Analytical Chemistry**, v. 22, n. 2, p. 354–358, 1950.

KUMARI, V. V. et al. Plant Nutrition: An Effective Way to Alleviate Abiotic Stress in Agricultural Crops. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 15, p. 8519, 31 jul. 2022.

- LEVENE, H. Robust tests for equality of variances,. Em: OLKIN, I. et al. (Eds.). **Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling**. 1. ed. Stanford University Press: [s.n.]. p. 278–292.
- LI, H. et al. Molecular and functional characterization of the magnesium transporter gene ZmMGT12 in maize. **Gene**, v. 665, p. 167–173, jul. 2018.
- LI, H. et al. Metabolomic and transcriptomic analyses reveal that sucrose synthase regulates maize pollen viability under heat and drought stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 246, p. 114191, nov. 2022.
- LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, n. C, p. 350–382, 1 jan. 1987.
- LING, Q.; HUANG, W.; JARVIS, P. Use of a SPAD-502 meter to measure leaf chlorophyll concentration in Arabidopsis thaliana. **Photosynthesis Research**, v. 107, n. 2, p. 209–214, 28 fev. 2011.
- LU, J. et al. Expression of a constitutively active nitrate reductase variant in tobacco reduces tobacco-specific nitrosamine accumulation in cured leaves and cigarette smoke. **Plant Biotechnology Journal**, v. 14, n. 7, p. 1500–1510, jul. 2016.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. DE. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafós, 1997.
- MARSCHNER, H. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. Amsterdam, Netherlands: Academic press, 2011.
- MIRI NARGESI, M.; SEDAGHATHOOR, S.; HASHEMABADI, D. Effect of foliar application of amino acid, humic acid and fulvic acid on the oil content and quality of olive. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 5, p. 3473–3481, maio 2022.
- MORETTI, L. G. et al. Thermomagnesium as a fertilizer for soybean: carbohydrate metabolism, silicon–magnesium fertilizer, and grain yield. **Journal of Plant Nutrition**, v. 44, n. 14, p. 2108–2122, 27 ago. 2021.
- NICCHIO, B. et al. Efeito da aplicação Foliar de Si, P e K no desenvolvimento, produção e qualidade de soqueira de cana-de-açúcar. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 14, n. 2, p. e8021, 26 mar. 2021.
- NÓIA JÚNIOR, R. DE S.; SENTELHAS, P. C. Soybean-maize off-season double crop system in Brazil as affected by El Niño Southern Oscillation phases. **Agricultural Systems**, v. 173, p. 254–267, jul. 2019.
- NOMAN, A. et al. Foliar application of ascorbate enhances the physiological and biochemical attributes of maize (*Zea mays* L.) cultivars under drought stress. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 61, n. 12, p. 1659–1672, 2 dez. 2015.
- NOVAIS, R. F. et al. **Fertilidade do solo**. 1. ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007.
- OLIVEIRA, S. L. et al. Molybdenum Foliar Fertilization Improves Photosynthetic Metabolism and Grain Yields of Field-Grown Soybean and Maize. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1633, 25 maio 2022.
- PENG, B. et al. OsAAP6 functions as an important regulator of grain protein content and nutritional quality in rice. **Nature Communications**, v. 5, n. 1, p. 4847, 11 set. 2014.
- PERCHLIK, M.; TEGEDER, M. Leaf Amino Acid Supply Affects Photosynthetic and Plant Nitrogen Use Efficiency under Nitrogen Stress. **Plant Physiology**, v. 178, n. 1, p. 174–188, set. 2018.

POPKO, M. et al. Effect of the New Plant Growth Biostimulants Based on Amino Acids on Yield and Grain Quality of Winter Wheat. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 470, 21 fev. 2018.

PORTIS, A. R.; PARRY, M. A. J. Discoveries in Rubisco (Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase): a historical perspective. **Photosynthesis Research**, v. 94, n. 1, p. 121–143, 31 out. 2007.

QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. Correção da acidez do solo. Em: VAN RAIJ, B. et al. (Eds.). **Recomendações de Adubação e Calagem Para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1997. p. 14–19.

REID, C. D. et al. Comparison of spectrophotometric and radioisotopic methods for the assay of Rubisco in ozone-treated plants. **Physiologia Plantarum**, v. 101, n. 2, p. 398–404, 1997.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. **How a corn plant develops** Special report (Iowa State University of Science and Technology Cooperative Extension Service). [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.scirp.org/journal/doi.aspx?doi=10.4236/ojml.2022.122014>>.

RODRIGUES, V. A. et al. Magnesium Foliar Supplementation Increases Grain Yield of Soybean and Maize by Improving Photosynthetic Carbon Metabolism and Antioxidant Metabolism. **Plants** **2021**, Vol. 10, Page 797, v. 10, n. 4, p. 797, 19 abr. 2021.

ROLIM, G., SENTELHAS, P., BARBIERE, V. Planilhas no ambiente excel para os cálculos de balanços hídricos: normal, sequencial, de cultura e de produtividade real e potencial. **Rev. Bras. Agrometeorol**, v. 6, n. 1, p. 133–137, 1998.

ROSOLEM, C. A. **RECOMENDAÇÃO E APLICAÇÃO DE NUTRIENTES VIA FOLIAR**. LAVRAS/UFPA/FAEP, , 2002.

SAUHEITL, L.; GLASER, B.; WEIGELT, A. Uptake of intact amino acids by plants depends on soil amino acid concentrations. **Environmental and Experimental Botany**, v. 66, n. 2, p. 145–152, maio 2009.

SEKHON, B. S. Chelates for micronutrient nutrition among crops. **Resonance**, v. 8, n. 7, p. 46–53, jul. 2003.

SHAFIQ, S. et al. Influence of Glycine Betaine (Natural and Synthetic) on Growth, Metabolism and Yield Production of Drought-Stressed Maize (Zea mays L.) Plants. **Plants**, v. 10, n. 11, p. 2540, 22 nov. 2021.

SHANTHI, G.; PREMALATHA, M.; ANANTHARAMAN, N. Effects of l-amino acids as organic nitrogen source on the growth rate, biochemical composition and polyphenol content of *Spirulina platensis*. **Algal Research**, v. 35, p. 471–478, nov. 2018.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591–611, 20 jun. 1965.

SHEN, S. et al. Intervening in sibling competition for assimilates by controlled pollination prevents seed abortion under postpollination drought in maize. **Plant, Cell & Environment**, v. 43, n. 4, p. 903–919, 24 abr. 2020.

SILVA, G. F. DA. **Armazenamento e disponibilidade de água no solo para as plantas em sistemas de manejo de longa duração**. Tese de Doutorado—Botucatu: Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2019.

SILVA, V. M. et al. Selenate and selenite affect photosynthetic pigments and ROS scavenging through distinct mechanisms in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) walp) plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 201, p. 110777, set. 2020.

STEPHENIE, S. et al. An insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for mammalian health enhancement. **Journal of Functional Foods**, v. 68, p. 103917, maio 2020.

SVENNERSTAM, H. et al. Comprehensive Screening of Arabidopsis Mutants Suggests the Lysine Histidine Transporter 1 to Be Involved in Plant Uptake of Amino Acids. **Plant Physiology**, v. 143, n. 4, p. 1853–1860, 6 abr. 2007.

TADROS, M. J.; TURK, O. M. A. The morphological, physiological and biochemical responses of sweet corn to foliar application of amino acids biostimulants sprayed at three growth stages. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n. (03) 2019, p. 412–417, 20 mar. 2019.

TEIXEIRA, W. F. et al. Foliar and Seed Application of Amino Acids Affects the Antioxidant Metabolism of the Soybean Crop. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 21 mar. 2017.

TEIXEIRA, W. F. et al. Seed and Foliar Application of Amino Acids Improve Variables of Nitrogen Metabolism and Productivity in Soybean Crop. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 28 mar. 2018.

TRÄNKNER, M. et al. Magnesium deficiency decreases biomass water-use efficiency and increases leaf water-use efficiency and oxidative stress in barley plants. **Plant and Soil**, v. 406, n. 1–2, p. 409–423, 17 set. 2016.

UNICAMP. **Center of Meteorological and Climatic Research Applied to Agriculture. Botucatu: Municipalities climate of São Paulo State**. Disponível em: <<https://www.cpa.unicamp.br/outras->>.

VAN RAIJ, B. et al. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1998.

VAN RAIJ, B. VAN et al. **Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais. Campinas, Instituto Agrônomo**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2001.

VINALL, K. et al. Amino acids are a nitrogen source for sugarcane. **Functional Plant Biology**, v. 39, n. 6, p. 503, 2012.

WAN, C. et al. Effects of nitrogen fertilizer on protein synthesis, accumulation, and physicochemical properties in common buckwheat. **The Crop Journal**, v. 11, n. 3, p. 941–950, jun. 2023.

WANG, D. et al. Effects of foliar application of amino acid liquid fertilizers, with or without *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9, on cowpea yield and leaf microbiota. **PLOS ONE**, v. 14, n. 9, p. e0222048, 4 set. 2019.

WEIH, M. et al. Evidence for magnesium–phosphorus synergism and co-limitation of grain yield in wheat agriculture. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 9012, 27 abr. 2021.

WELLBURN, A. R. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. **Journal of Plant Physiology**, v. 144, n. 3, p. 307–313, set. 1994.

YANG, G. et al. Amino Acid Transporters in Plant Cells: A Brief Review. **Plants**, v. 9, n. 8, p. 967, 30 jul. 2020.

ZAMLJEN, T. et al. Biostimulative effect of amino acids on the enzymatic and metabolic response of two *Capsicum annuum* L. cultivars grown under salt stress. **Scientia Horticulturae**, v. 309, p. 111713, fev. 2023.

ZHANG, Q. et al. Magnesium promotes tea plant growth via enhanced glutamine synthetase-mediated nitrogen assimilation. **Plant Physiology**, 4 mar. 2023.

ANEXO 1 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Tabela 1. Macro e micronutrientes, pigmentos fotossintéticos, trocas gasosas de plantas de milho de segunda safra sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e Aminoácidos (AA) em duas safras de cultivo, 2021 e 2020. Botucatu, SP, Brasil.

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
<i>Ano</i>											
2021	29,8 b	3,1 a	23,4 a	4,4 a	4,0 a	1,6	156,6 a	8,6 a	20,4	39,9	10,7 a
2022	35,0 a	2,7 b	19,5 b	3,2 b	2,6 b	1,5	105,0 b	6,2 b	19,5	39,1	9,4 b
Probabilidade de F											
Ano (A)	<0,0001	0,0194	0,0072	<0,0001	<0,0001	0,2671	<0,0001	<0,0001	0,3507	0,5096	0,0334
Tratamentos (T)	0,006	0,0013	0,3494	0,4325	<0,0001	0,6164	0,8966	0,1962	0,245	0,4291	0,1853
A x T	0,4709	0,8518	0,9439	0,9668	0,0576	0,9978	0,966	0,4208	0,853	0,8241	0,7046
CV (%)	8,88	16,43	17,15	11,71	7,8	15,75	13,87	12,24	13,08	8,41	16,39
Tratamentos	Chl a	Chl b	Chl a+b	Carot	SPAD	A	gs	Ci	E	EUA	A/Ci
<i>Ano</i>											
2021	1288,7 b	362,4	1651,1 b	329,8	30,2	21,4	198,2 b	250,8	5,2 b	4,2	0,0869
2022	1352,2 a	365,3	1717,4 a	338,9	30,8	22,1	137,2 a	250,8	5,5 a	4,1	0,0895
Probabilidade de F											
Ano (A)	0,0377	0,6183	0,0319	0,1596	0,243	0,1326	<0,0001	0,9935	0,0334	0,4041	0,2785
Tratamentos (T)	0,0001	<0,0001	0,0001	0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0589	<0,0001	<0,0001
A x T	0,4804	0,0019	0,7987	0,0108	0,077	0,279	0,8078	0,5322	0,5676	0,9952	0,5582
CV (%)	6,14	4,32	4,89	5,47		5,6	9,5	5,9817	6,6	8,02	7,38

Em $g\ kg^{-1}$: Nitrogênio (N), fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Enxofre (S); em $mg\ kg^{-1}$: Ferro (Fe), Cobre (Cu), Zinco (Zn), Manganês (Mn), Boro (B); em $\mu g\ cm^{-2}$: Clorofila a (Chl a), Clorofila b (Chl b), Clorofila a+b (Chl a+b), Carotenóides (Carot.), índice SPAD (SPAD), Fotossíntese líquida (A, $\mu molCO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$), Condutância estomática (gs, $mmolH_2O\ m^{-2}\ s^{-1}$), Concentração de CO_2 na câmara subestomática (Ci, $\mu molCO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$), Transpiração (E, $mmolH_2O\ m^{-2}\ s^{-1}$), Eficiência do uso da água (EUA, $\mu molCO_2\ (mmol\ H_2O)^{-1}$), Eficiência da carboxilação (A/Ci). Médias seguidas por letras diferentes indicam diferença estatística segundo teste F ($p<0,05$).

Tabela 2. Atividade enzimática, componentes de produção e produtividade e proteínas nos grãos de milho de segunda safra sob influência da aplicação foliar de Magnésio (Mg^{2+}) e Aminoácidos (AA) em duas safras de cultivo, 2021 e 2020. Botucatu, SP, Brasil.

Tratamentos	Rubisco	NR	H ₂ O ₂	MDA	SOD	CAT	Proli.	AP	NFE
Ano									
2021	5,51	31,61	11,41	16,15	26,29	38,98	0,99	189,7	15,9
2022	6,46	32,55	9,74	14,22	25,23	37,6	0,98	183,6	15,6

Probabilidade de F

Ano (A)	<0,0001	0,2054	<0,0001	0,0017	0,1965	0,1587	0,7679	0,1181	0,048
Tratamentos	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0027	0,5837	0,3139	0,3091
A x F	0,115	0,7548	0,2146	0,2746	0,818	0,9637	0,9924	0,9258	0,9073
CV (%)	5,19	6,34	9,35	9,98	8,7	6,96	4,18	5,75	2,41

Tratamentos	NGF	NGE	M100G	PG	Albumina	Glutelina	Globulina	Prolamina	PT
Ano									
2021	26,6	421,5 b	25,3 b	6693 b	3,473 a	8,891 b	2,177 a	0,587 a	15,13
2022	31,4	489,1 a	29,7 a	7675 a	2,937 b	9,798 a	1,854 b	0,474 b	15,06

Probabilidade de F

Ano (A)	0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0005	<0,0001	0,7906
Tratamentos	0,0013	0,0011	0,4252	<0,0001	0,226	0,1633	0,2204	0,3299	0,0097
A x F	0,9087	0,8676	0,3128	0,9469	0,5743	0,9755	0,9634	0,9847	0,9653
CV (%)	5,33	6,068	3,97	3,82	6,36	5,55	11,09	7,48	3,91

Rubisco ($mmol\ CO_2\ min^{-1}\ mg^{-1}\ prot$), Nitrato Redutase ($mmol\ NO_2^{-}\ min^{-1}\ mg^{-1}\ prot$), Peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , $\mu mol\ g^{-1}\ MF$), malondialdeído (MDA, $mmol\ g^{-1}\ MF$), Superóxido dismutase (SOD, Unidade $mg^{-1}\ prot.$), Catalase (CAT, $mmol\ min^{-1}\ mg^{-1}\ prot$), Prolifidade (Proli. nº espigas planta⁻¹) Altura de planta (AP, cm), Número de fileiras por espiga (NFE), Número de grãos por fileira (NGF), Número de grãos por espiga (NGE), Massa de cem grãos (M100G, g), Produtividade de grãos (PG, $kg\ ha^{-1}$), Albumina ($mg\ g^{-1}\ MS$), Glutelina ($mg\ g^{-1}\ MS$), Globulina ($mg\ g^{-1}\ MS$), prolamina ($mg\ g^{-1}\ MS$), Proteína total ($mg\ g^{-1}\ MS$). Médias seguidas por letras diferentes indicam diferença estatística segundo teste F ($p<0,05$).