

EFEITOS DO HIDROLISADO DE PROTEÍNA DE LARVA DE MOSCA SOLDADO-NEGRO NA SIMBIOSE MICORRÍZICA E NO ESTADO FISIOLÓGICO DO MILHO

Palavras-Chave: Bioestimulantes, Micorrizas, Nutrição mineral

HENRIQUE NOGUEIRA¹, Instituto de Biologia LAFIMP

THAYSSA C.M. BONFIM¹, Instituto de Biologia LAFIMP

Professora Doutora SARA A.L. ANDRADE¹ (orientadora) Instituto de Biologia LAFIMP

Professor Doutor PAULO MAZZAFERA¹ (co-orientador) Instituto de Biologia LAFIMP

1- UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INTRODUÇÃO:

O uso de bioestimulantes vegetais tornou-se prática comum na agricultura e oferece uma série de benefícios ao estimular o crescimento vegetal e atenuar os efeitos negativos de estresses ambientais (Van Oosten et al. 2017). De forma geral, bioestimulantes podem ser definidos como substâncias orgânicas ou inorgânicas, e/ou microrganismos, aplicadas para melhorar a absorção de nutrientes, estimular o crescimento, aumentar a tolerância ao estresse ou a qualidade de culturas (Van Oosten et al. 2017).

Em especial, a maioria dos produtos com HP é produzida a partir de hidrólise química de subprodutos de origem animal, enquanto produtos à base de plantas têm sido desenvolvidos mais recentemente (Van Oosten et al. 2017) e contém misturas de polipeptídeos, oligopeptídeos e aminoácidos. Vários dos peptídeos e aminoácidos formados durante a hidrólise de proteínas têm atividade similar à hormonal (Colla et al. 2017). Outras propriedades têm sido relacionadas ao aumento na absorção de nutrientes, devido ao

aumento na solubilidade e mobilidade de micronutrientes (Colla et al. 2014). Alguns trabalhos destacaram os benefícios dos HPs na fisiologia de culturas, incluindo aumento do metabolismo de carbono e nitrogênio, indução do metabolismo secundário, regulação positiva de genes relacionados à absorção de nitrato e estimulação de atividades enzimáticas para absorção de ferro pelas raízes (Celletti et al., 2020; Ertani et al., 2009; Nardi et al., 2016; Schiavon et al., 2008).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) formam simbiose com o milho, favorecendo seu crescimento, especialmente sob estresse. Essa associação permite maior absorção de nutrientes, como os de baixa mobilidade, graças à ação das hifas extrarradiculares. Além de benefícios nutricionais, os FMAs também aumentam a tolerância a estresses abióticos (como seca, salinidade e desequilíbrios iônicos) e bióticos. Por isso, são considerados de interesse biotecnológico na agricultura. Produtos contendo FMAs já são comercializados como biofertilizantes e bioestimulantes, com novos registros em andamento no Brasil. Apesar disso, a interação entre FMAs e bioestimulantes não microbianos ainda é

pouco estudada. Alguns trabalhos, no entanto, apontam efeitos sinérgicos, como na berinjela (*Solanum melongena*), onde a aplicação combinada de bioestimulante HP e o FMA *R. irregularis* aumentou a produção comercial, melhorou a eficiência de uso de nitrogênio e reduziu em quase 20% a concentração de glicoalcaloides, elevando a qualidade dos frutos (Miceli et al., 2023).

Este estudo tem como objetivo avaliar a influência da aplicação do HP via foliar e via solo no estabelecimento da micorriza arbuscular *Rhizophagus irregularis* em raízes de plantas de milho (*Zea mays*). Além disso, busca-se analisar a interação entre os bioestimulantes e a simbiose micorrízica no crescimento, na nutrição e no estado fisiológico das plantas hospedeiras.

METODOLOGIA:

Foi realizado um experimento com *Zea mays*, em condições de casa de vegetação, com delineamento experimental totalmente casualizado. Os tratamentos consistiram na aplicação do HP via foliar (HP Foliar), via solo (HP Solo) e sem aplicação do HP (Controle) e também com FMA e sem FMA para cada tratamento. Cada grupo experimental teve 10 repetições. Na semeadura foram colocadas três sementes por vaso e após a germinação foram desbastadas deixando uma planta por vaso, também foram inoculados substratos com o FMA *Rhizophagus irregularis*. A aplicação do HP via foliar ocorreu em três momentos: 8º, 12º e 18º dias após a germinação, a aplicação via solo foi realizada diretamente no substrato logo após a semeadura e cinco dias após a germinação. As plantas foram cultivadas por 34 dias após a semeadura, em vasos de 3 L contendo vermiculita como substrato e a irrigação foi realizada com solução nutritiva de Hoagland de duas a três vezes por semana e com água quando necessário.

A avaliação dos pigmentos foliares foi realizada nas folhas jovens completamente expandidas com lígula aparente no 28º dia após a germinação, utilizando o equipamento Dualex, obtendo-se dados de clorofila, flavonoides, antocianinas e índice de balanço de nitrogênio (NBI). Na colheita, a parte aérea foi separada da raiz, e seca em estufa a 60 °C para determinação da biomassa seca. As raízes de plantas de cinco repetições foram secas para determinação da biomassa radicular e de outras cinco preservadas em álcool 50% para análise morfológica no software WinRhizo e posteriormente para análise de colonização micorrízica após coloração com Ink & Vinager (Phillips J, Hayman D, 1970). Os dados foram submetidos a análise da variância (ANOVA), para comparação das médias foi utilizado o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A maioria dos dados não demonstraram diferença significativa e também não coincidiram com resultados prévios obtidos em outro experimento com o HP via solo e via foliar em *Zea mays*, também não é possível obter uma análise confiável da avaliação micorrízica por conta da variância e desvio padrão muito grandes e também o pequeno e variável número de amostras de cada tratamento mostrados na tabela 1.

	Controle	HP Foliar	HP Solo
Média	1,73	2,11	1,62
Desvio padrão	0,74	0,64	1,21
Nº de amostras	5	4	3

Tabela 1

A partir dos gráficos que demonstraram alguma diferença, é possível observar um investimento maior na Parte Aérea (PA) em relação a Raiz (R) no milho quando aplicado o bioestimulante tanto via solo como via foliar demonstrado na imagem 1. Porém em relação ao peso da raiz apenas o controle não-micorrizado obteve um valor significativo em relação aos demais ao mesmo tempo que o grupo controle ao todo demonstrou média superior aos demais tratamentos presente na imagem 2.



Imagem 3 - Amostra 28

Imagem 4 - Amostra 9

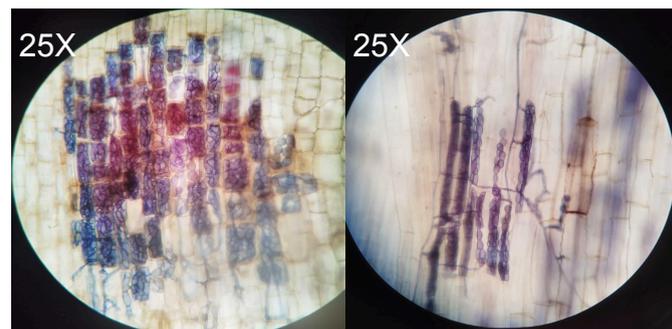


Imagem 5 - Amostra 41

Imagem 6 - Amostra 44

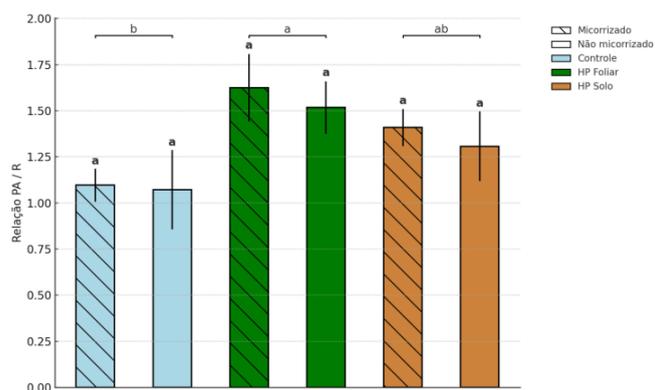


Imagem 1 - Gráfico Relação PA/R

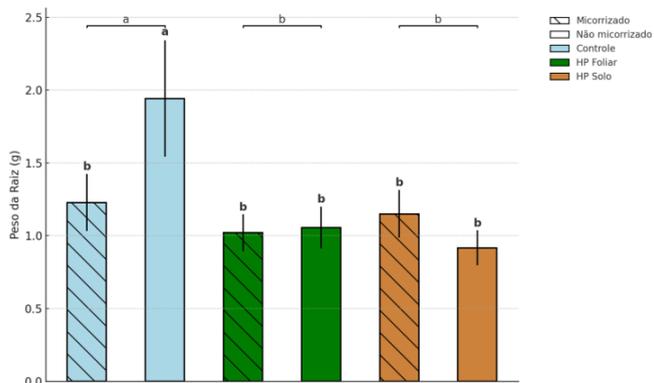


Imagem 2 - Gráfico Biomassa da raiz

Na análise microscópica da micorrização notou-se presença de alta colonização em algumas amostras dos grupos não-micorrizados enquanto que algumas dos grupos micorrizados não apresentaram colonização por FMA, dos quais foram desconsiderados nas análises de dados. Houve diferentes perfis de colonização, algumas bem evidentes, outras sutis, e outras ainda com estruturas mais incomuns como vesículas.

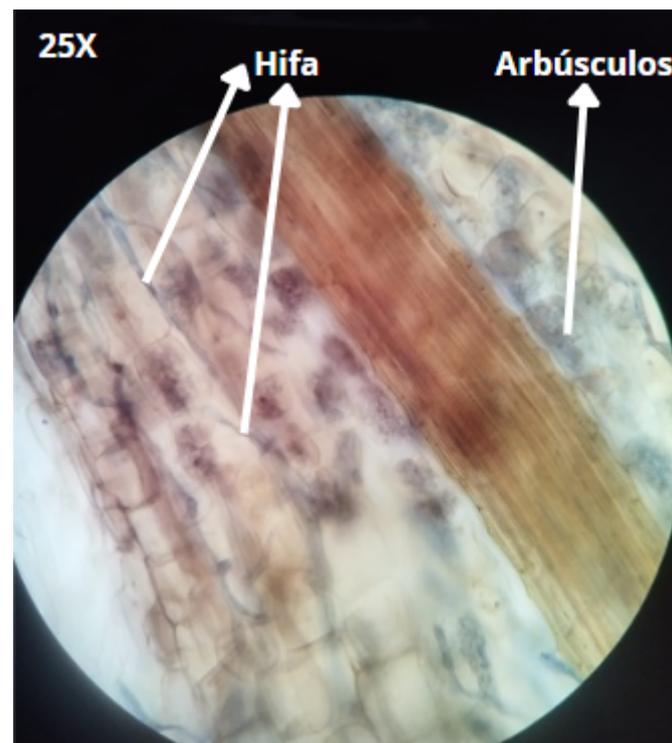


Imagem 7 - amostra 6

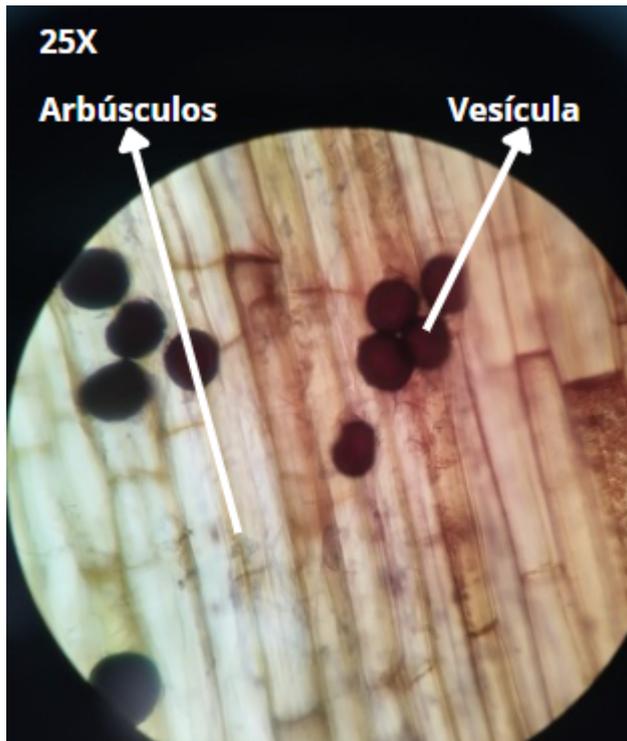


Imagem 8 - amostra 21

CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos indicaram uma possível troca de amostras durante a coleta de dados, evidenciada principalmente pelas grandes discrepâncias observadas nas variáveis fisiológicas quando comparadas aos dados de bioestimulantes obtidos em experimentos anteriores. Essa inconsistência foi ainda mais evidente durante a avaliação do estabelecimento da micorriza arbuscular, comprometendo a confiabilidade dos dados. Diante disso, torna-se difícil estabelecer conclusões precisas sobre os efeitos dos bioestimulantes e sua interação com a simbiose micorrízica, sendo necessária uma do experimento para obtenção de resultados consistentes.

BIBLIOGRAFIA

Baltazar, M., Correia, S., Guinan, K. J., Sujeeth, N., Bragança, R., & Gonçalves, B. (2021). **Recent advances in the molecular**

effects of biostimulants in plants: An overview. *Biomolecules*, 11(8), 1096.

Battacharyya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P., & Prithiviraj, B. (2015). **Seaweed extracts as biostimulants in horticulture.** *Scientia horticultrae*, 196, 39-48.

Brain, K. R., Chalopin, M. C., Turner, T. D., Blunden, G., & Wildgoose, P. B. (1973). **Cytokinin activity of commercial aqueous seaweed extract.** *Plant Science Letters*, 1(6), 241-245.

Bremner, J. M. (1965). **Total nitrogen. Methods of soil analysis: part 2 chemical and microbiological properties**, 9, 1149-1178.

Colla, G.; Rouphael, Y.; Canaguier, R.; Svecova, E.; Cardarelli, M. **Biostimulant Action of a Plant-Derived Protein Hydrolysate Produced through Enzymatic Hydrolysis.** *Front. Plant Sci.* 2014, 5, 448.

Colla, G.; Hoagland, L.; Ruzzi, M.; Cardarelli, M.; Bonini, P.; Canaguier, R.; Rouphael, Y. **Biostimulant Action of Protein Hydrolysates: Unraveling Their Effects on Plant Physiology and Microbiome.** *Front. Plant Sci.* 2017, 8, 2202.

Craigie JS. **Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture.** *J Appl Phycol.* 2011;23:371–93.

Crouch, I. J., Smith, M. T., Van Staden, J., Lewis, M. J., & Hoad, G. V. (1992). **Identification of auxins in a commercial seaweed concentrate.** *Journal of plant physiology*, 139(5), 590-594.

Di Miceli, G., Vultaggio, L., Sabatino, L., De Pasquale, C., La Bella, S., & Consentino, B. B. (2023). **Synergistic effect of a plant-derived protein hydrolysate and arbuscular mycorrhizal fungi on eggplant grown in open fields: A two-year study.** *Horticultrae*, 9(5), 592.

Dmytryk, A., Samoraj, M., Moustakas, K., Witek-Krowiak, A., & Chojnacka, K. (2022).

Bioactive fatty acids and compounds from *Spirulina (Arthrospira) platensis*: Potential as biostimulants for plant growth. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 30, 100899.

Liao, D., Wang, S., Cui, M., Liu, J., Chen, A., & Xu, G. (2018). **Phytohormones regulate the development of arbuscular mycorrhizal symbiosis.** International journal of molecular sciences, 19(10), 3146.

Lu, Q., Jin, L., Wang, P., Liu, F., Huang, B., Wen, M., & Wu, S. (2023). **Effects of Interaction of Protein Hydrolysate and Arbuscular Mycorrhizal Fungi Effects on Citrus Growth and Expressions of Stress-Responsive Genes (Aquaporins and SOSs) under Salt Stress.** Journal of Fungi, 9(10), 983.

Matosinhos, R. D., Cesca, K., Carciofi, B. A. M., de Oliveira, D., & de Andrade, C. J. (2023). **Mannosylerythritol lipids as green pesticides and plant biostimulants.** Journal of the Science of Food and Agriculture, 103(1), 37-47.

Melloni, R., & Cardoso, E. J. B. N. (1999). **Quantificação de micélio extrarradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas e endófitos: I. Método empregado.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, 23, 53-58.

Ofori-Agyemang, F., Waterlot, C., Manu, J., Laloge, R., Francin, R., Papazoglou, E. G., ... & Oustrière, N. (2024). **Plant testing with hemp and miscanthus to assess phytomanagement options including biostimulants and mycorrhizae on a metal-contaminated soil to provide biomass for sustainable biofuel production.** Science of The Total Environment, 912, 169527.

Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). **Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection.** Transactions of the British mycological Society, 55(1), 158-IN18.

Rasouli, F., Nasiri, Y., Hassanpouraghdam, M. B., Asadi, M., Qaderi, T., Trifa, A., ... & Szczepanek, M. (2023). **Seaweed extract and arbuscular mycorrhiza co-application affect the growth responses and essential oil composition of *Foeniculum vulgare* L.** Scientific Reports, 13(1), 11902.

Sharma, H. S., Fleming, C., Selby, C., Rao, J. R., & Martin, T. (2014). **Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses.** Journal of Applied Phycology, 26, 465-490.

Sugiura, Y., Akiyama, R., Tanaka, S., Yano, K., Kameoka, H., Marui, S., ... & Saito, K. (2020). **Myristate can be used as a carbon and energy source for the asymbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi.** Proceedings of the National Academy of Sciences, 117(41), 25779-25788.

Tanaka, S., Hashimoto, K., Kobayashi, Y., Yano, K., Maeda, T., Kameoka, H., ... & Kawaguchi, M. (2022). **Asymbiotic mass production of the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus clarus*.** Communications Biology, 5(1), 43.

Tay, S.A.B.; Macleod, J.K.; Palni, L.M.S.; & Letham, D.S. (1985). **Detection of cytokinins in a seaweed extract.** Phytochemistry, 24(11), 2611-2614.

Van Oosten, M. J., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S., & Maggio, A. (2017). **The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants.** Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 4, 1-12.

Verkleij, F. N. (1992). **Seaweed extracts in agriculture and horticulture: a review.** Biological Agriculture & Horticulture, 8(4), 309-324.