

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

GUILHERME CORRÊA RODRIGUES

**AÇÃO DA PUTRESCINA E O EFEITO DO DÉFICIT HÍDRICO ALTERA A
MORFOFISIOLOGIA DE PLANTAS DE MILHO SOB DESFOLHA?**

Alfenas/MG

2025

GUILHERME CORRÊA RODRIGUES

**AÇÃO DA PUTRESCINA E O EFEITO DO DÉFICIT HÍDRICO ALTERA A
MORFOFISIOLOGIA DE PLANTAS DE MILHO SOB DESFOLHA?**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biomoléculas.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Corrêa de Souza

Alfenas/MG

2025

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Rodrigues, Guilherme Corrêa.

Ação da putrescina e o efeito do déficit hídrico altera a morfofisiologia de plantas de milho sob desfolha? / Guilherme Corrêa Rodrigues. - Alfenas, MG, 2025.

61 f. : il. -

Orientador(a): Thiago Corrêa de Souza.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. Antecipe. 2. Estresse hídrico. 3. Estresse mecânico. 4. Zea mays L.. I. Souza, Thiago Corrêa de, orient. II. Título.

GUILHERME CORRÊA RODRIGUES

AÇÃO DA PUTRESCINA E O EFEITO DO DÉFICIT HÍDRICO ALTERA A MORFOFISIOLOGIA DE PLANTAS DE MILHO SOB DESFOLHA?

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biotecnologia

Aprovado em: 14 de novembro de 2025.

Prof. Dr. Thiago Corrêa de Souza
Presidente da Banca Examinadora
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Plínio Rodrigues dos Santos Filho
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Adriano Bortolotti da Silva
Instituição: Universidade Prof. Edson Antônio Velano



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Corrêa de Souza, Professor do Magistério Superior**, em 14/11/2025, às 22:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1671515** e o código CRC **CC258FA1**.

Aos meus pais, Valdeci Leite Rodrigues e Neusa de Lourdes Corrêa Rodrigues por todo apoio e amor. E a todos professores e amigos que me ajudaram em minha jornada com ensinamentos e companheirismo.

Dedico

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) - APQ-251-22, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - 404642/2025-0; 303970/2025-1 e à Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL/MG) por toda a infraestrutura.

RESUMO

O déficit hídrico ocorrendo juntamente com a desfolha são tipos de estresses nos quais as plantações de milho (*Zea mays* L.) estão suscetíveis, e não há estudos na literatura investigando ambos os estresses nos estágios iniciais de desenvolvimento do milho. Mudanças climáticas têm aumentado nas últimas décadas trazendo consigo a secas e chuvas de granizo, levando a perdas de produção. A fim de amenizar os efeitos que estes estresses causam no milho destacam-se as poliaminas como a putrescina, que ajuda na proteção contra danos oxidativos e auxilia no desenvolvimento celular. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar as alterações morfofisiológicas e bioquímicas na aplicação exógena de putrescina 50 μ M em plantas sob desfolha submetidas ao déficit hídrico. O experimento foi realizado em vasos, e as plantas foram submetidas a quatro tratamentos com a desfolha no estágio de quatro folhas totalmente expandidas: irrigado sem putrescina e irrigado com putrescina, déficit hídrico sem putrescina e déficit hídrico com putrescina. Parâmetros morfométricos, como trocas gasosas, fluorescência da fotossíntese, morfologia das raízes e conteúdo de nutrientes, foram avaliados aos sete dias após o déficit hídrico. As plantas de milho desfolhadas e irrigadas, em comparação com as plantas desfolhadas sob déficit hídrico apresentaram menor altura, diâmetro do caule, comprimento, nutrientes e menores valores em dados morfológicos das raízes. A aplicação da putrescina gerou valores menores na concentração de alguns nutrientes, porém sua aplicação não apresentou diferenças na produção nem efeitos deletérios nas plantas, não demonstrando grandes benefícios na recuperação do milho desfolhado sob o déficit hídrico.

Palavras-chave: Antecipe; Estresse hídrico; Estresse mecânico; *Zea mays* L.;

ABSTRACT

Water deficit occurring together with defoliation are types of stress to which maize (*Zea mays* L.) crops are susceptible, and there are no studies in the literature investigating both stresses during the early stages of maize development. Climate change has increased in recent decades, bringing droughts and hailstorms that lead to yield losses. To mitigate the effects these stresses cause in maize, polyamines such as putrescine stand out, as they help protect against oxidative damage and assist cellular development. Thus, the objective of this study was to determine the morphophysiological and biochemical changes resulting from the exogenous application of 50 μ M putrescine to defoliated plants subjected to water deficit. The experiment was conducted in pots, and the plants were subjected to four treatments with defoliation at the four fully expanded leaves stage: irrigated without putrescine, irrigated with putrescine, water deficit without putrescine, and water deficit with putrescine. Morphometric parameters such as gas exchange, chlorophyll fluorescence, root morphology, and nutrient content were evaluated seven days after the onset of the water deficit. Defoliated and irrigated maize plants, compared with defoliated plants under water deficit, showed lower height, stem diameter, root length, nutrient content, and lower values for root morphological traits. Putrescine application produced lower concentrations of some nutrients; however, its application did not result in differences in yield nor cause deleterious effects on the plants, showing no significant benefits for the recovery of defoliated maize under water deficit.

Keywords: Putrescine; Water deficit; Mechanical stress; *Zea mays* L.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	07
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1	MILHO.....	11
2.2	MUDANÇAS CLIMÁTICAS.....	12
2.3	ESTRESSE MECÂNICO.....	13
2.4	DÉFICIT HÍDRICO.....	14
2.5	ANTECIPE.....	15
2.6	PUTRESCINA.....	16
	REFENRÊCIAS	17
	ARTIGO 1: AÇÃO DA PUTRESCINA E O EFEITO DO DÉFICIT	18
	HÍDRICO ALTERA A MORFOFISIOLOGIA DE PLANTAS DE	
	MILHO SOB DESFOLHA?	

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma *commodity* e um dos cereais de maior produtividade em todo mundo. Esta cultura desempenha um papel de destaque, sendo predominantemente empregada na produção de rações, especialmente para o setor de produção animal e também para a alimentação humana. No Brasil, a produção da safra 2022/2023 chega a 131.865,9 mil toneladas (CONAB, 2023). Além disso, o milho brasileiro está ganhando crescente proeminência no cenário internacional de comércio agrícola. O Brasil ocupa a terceira posição como produtor mundial de milho e detém o título de maior exportador desse cereal, que está entre os três mais cultivados em todo o planeta (COELHO, 2023).

No decorrer do crescimento e desenvolvimento, as plantas de milho podem estar susceptíveis a vários fatores ambientais, como os estresses bióticos e abióticos (ARSHAD, 2022). Dentre estes estresses, destacam -se o déficit hídrico e o dano mecânico. O déficit hídrico pode levar à diminuição da produtividade e prejudicar o crescimento das plantas, podendo provocar alterações em suas funções metabólicas e resultar em uma redução na capacidade de absorção de luz, devido à produção reduzida de pigmentos fotossintéticos (ARSHAD, 2022).

Segundo cálculos da FAO (2021) o déficit hídrico resultou em prejuízos diretos de cerca de US\$ 29 bilhões na agricultura de nações em desenvolvimento entre os anos de 2005 e 2015. A magnitude das perdas de rendimento do milho varia significativamente, entre 30% e 90%, dependendo da intensidade e duração do déficit hídrico, bem como do estágio de desenvolvimento da cultura. O primeiro estágio de desenvolvimento do milho é o vegetativo que se inicia na emergência das folhas até o pendoamento, no qual o presente trabalho irá avaliar o efeito do déficit hídrico e estresse mecânico. De acordo com Mi et al. (2018), o estresse hídrico no crescimento vegetativo do milho reduz a matéria seca com diminuição na altura e no tamanho das folhas, atraso na emergência das pontas das folhas, no tamanho das espigas e na formação de grãos, com maior impacto na produção de grãos quando o estresse ocorre na fase reprodutiva em comparação com a fase vegetativa. Tais impactos ocorrem porque as plantas necessitam de água para a produção de recursos fotossintéticos suficientes para atingir o máximo desenvolvimento (ASLAM et. al, 2015). Os efeitos morfofisiológicos do déficit hídrico ocorrendo juntamente com o estresse mecânico de desfolha nos estádios iniciais de desenvolvimento do milho ainda não são conhecidos.

O déficit hídrico desencadeia mudanças nas plantas, afetando a fotossíntese, a respiração e o crescimento celular (CAMPOS; SANTOS; NACARATH, 2021). As plantas,

quando expostas a esse estresse, reagem ajustando os níveis de proteínas e metabólitos como ácidos orgânicos presentes na respiração celular, a fim de aumentar os mecanismos de defesa (PARIDA; PANDA; RANGANI, 2018). É reconhecido que o caminho respiratório mitocondrial, incluindo o ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), é altamente suscetível ao déficit hídrico. Pesquisas realizadas com plântulas de milho indicam um aumento nos níveis de metabólitos do ciclo do TCA, como malato e succinato, e com uma redução nos níveis de chiquimato e fumarato como resposta ao déficit hídrico (SUN et al., 2016). A elevada taxa do ciclo do TCA indica uma maior atividade metabólica nas mitocôndrias, resultando na produção aumentada de redutores e trifosfato de adenosina (ATP) em situações de estresse (CHE-OTHMAN et al., 2020).

Nesse contexto de intempérie climática, os danos físicos aos órgãos das plantas é um estresse que prevalece em todo o mundo, ocasionados por chuva de granizo, ventos e baixas temperaturas. O tráfego por maquinários agrícolas também pode gerar esses danos, além de pragas e doenças, caracterizando uma perda na parte aérea denominada desfolha. Normalmente, essas consequências indesejáveis durante o ciclo de crescimento da cultura de milho costumam afetar negativamente o rendimento final (SOAVE; WETZEL, 1987; COPETTI, 2021). No entanto, há outras pesquisas que indicam que o desfolhamento precoce das plantas de milho pode permitir a retomada do crescimento, sem resultar em perdas significativas de produtividade (KARAM, 2020). O impacto do estresse mecânico varia de acordo com o estágio de desenvolvimento em que ocorre, na intensidade do estresse e na condição ambiental em que a planta se encontra, uma vez que o milho é mais sensível durante a fase de florescimento, resultando em perdas no desenvolvimento das espigas, no número e na massa dos grãos (LI; LIU; GU, 2010; NEIVERTH, 2021).

Segundo Ferreira (2022) a recuperação das plantas de milho após a desfolha precoce em estágio V4 (quarta folha totalmente desenvolvida) apesar de apresentarem menor altura e diâmetro de colmo tiveram boa recuperação, apresentando curva de crescimento semelhante às plantas não desfolhadas. Isso pode ser explicado pela alta produção de fitormônios devido ao prevaecimento da zona meristemática foliar abaixo do nível do solo até o estágio vegetativo V6 (sexta folha totalmente desenvolvida), fazendo com que as reservas energéticas sejam direcionadas à recuperação da parte aérea.

Sangoi et al. (2014) relata que diferentes genótipos de milho, estágios de desfolha e sua relação com o rendimento de grãos revelou que danos significativos ocorrem quando a desfolha ocorre durante a fase de floração do milho, especialmente no estágio R1 (estádio reprodutivo de enchimento dos grãos). O aumento na desfolha prejudica a relação entre as

partes da planta responsáveis pela produção de energia e aquelas que consomem energia, levando a uma redução no rendimento de grãos. As fases de floração e enchimento de grãos são as mais suscetíveis a esses danos.

Com isso, espera-se que o déficit hídrico e o estresse mecânico causem grandes influências na morfofisiologia vegetal, podendo gerar perdas de produtividade significativas. Compreender as respostas das plantas de milho a esses estresses é fundamental para desenvolver estratégias de manejo eficazes que minimizem tais perdas de produtividade e garantam a resiliência da cultura diante de condições climáticas adversas. Isso inclui o monitoramento das plantas em diferentes estágios de desenvolvimento e a implementação de medidas para mitigar os impactos negativos do déficit hídrico e do estresse mecânico.

Desta forma, quando as plantas de milho passam por dois fatores estressantes simultaneamente, como déficit hídrico e desfolha, é importante entender o impacto desses fatores morfofisiológicos e bioquímicos nessas plantas. Além disso, em países com grande diversidade climática, estes fatores podem ocorrer concomitantemente afetando sua produção. Assim, como as plantas responderiam a estes fatores ainda precisa de estudo e elucidação dos mecanismos envolvidos na resposta a estes estresses.

Baseado neste contexto, existem diversos trabalhos que visam diminuir o impacto de estresses abióticos nas plantas, como a aplicação direta de bioestimulantes (NANDY, 2023). As poliaminas são consideradas bioestimulantes e estão relacionadas com o direcionamento de proteínas, estabilização e proteção das membranas biológicas, que são suscetíveis a danos oxidativos causados por diversos tipos de estresses abióticos (CHEN, 2019). A putrescina é um composto orgânico naturalmente presentes em todas as células das plantas e desempenham papéis essenciais em diversos processos fisiológicos como desenvolvimento radicular, floração e frutificação, divisão celular, indução da dobradura de proteínas, síntese de DNA, mecanismo fotossintético e de defesa e o principal alvo deste trabalho, a capacidade de induzir resposta à estresses (SANTANEN, 2000; CHEN, 2019; KAMIAB, 2020). A quantidade total de putrescina presente nas plantas está correlacionada diretamente com sua capacidade de tolerar o déficit hídrico independentemente da concentração de outras poliaminas, indicando que a putrescina desempenha um papel crucial na melhoria da resistência das plantas ao déficit (ALCÁZAR, 2010). A administração externa de poliaminas, como a putrescina, pode contribuir para aumentar a resistência do milho ao déficit hídrico e à desfolha. Isso ocorre por meio da ativação de mecanismos de defesa antioxidante, da indução da produção de fitohormônios e da regulação do metabolismo interno de poliaminas (LI, 2015; 2018). Em *Ctenanthe setosa* (Rosc.) Eichler, a aplicação externa de poliaminas causou

uma mudança nos efeitos do déficit hídrico sobre os danos teciduais e o enrolamento foliar induzido pela desidratação. Nesse processo, as poliaminas desempenharam um papel significativo ao aumentar a tolerância osmótica e melhorar a concentração de prolina, ao mesmo tempo em que reduziram os níveis de açúcares e proteínas solúveis (SARUHAN, 2006).

Desta forma, como as plantas de milho sob déficit hídrico e desfolha responderiam com a aplicação de putrescina? Este bioestimulante atenuaria o efeito destes estresses na morfofisiologia, bioquímica e produtividade do milho? Quais os mecanismos a putrescina induziria nas respostas das plantas em ambos os estresses? Estas perguntas precisam ser elucidadas e este projeto possibilita responder cada uma delas. Ademais, na literatura, são escassos os trabalhos envolvendo este bioestimulante na resposta de milho com déficit hídrico e desfolha no metabolismo dos ácidos orgânicos.

Assim, o milho desempenha um papel de destaque na agricultura, sendo uma cultura essencial para a produção de alimentos e rações em todo o mundo. Com a produção brasileira atingindo níveis significativos e o país ocupando uma posição de destaque no cenário global de exportações, a pesquisa que visa entender como o milho responde a estresses ambientais, como o déficit hídrico e a desfolha, torna-se crucial para a segurança alimentar e a sustentabilidade agrícola em escala global. O uso de bioestimulantes, como a putrescina, oferece promissoras soluções para mitigar os impactos negativos desses estresses, destacando a relevância dessa pesquisa para a agricultura tanto no Brasil quanto no mundo. O estudo busca ampliar o entendimento sobre o metabolismo do carbono em plantas, contribuindo para o desenvolvimento de sistemas agrícolas mais sustentáveis e resilientes. Considerando a escassez de pesquisas que avaliem simultaneamente os efeitos do déficit hídrico, do estresse mecânico e da aplicação de bioestimulantes, a investigação concentra-se em preencher essa lacuna. Seus objetivos principais são: analisar as alterações morfofisiológicas em plantas de milho submetidas aos dois tipos de estresse e avaliar a atuação da putrescina quando ambos os fatores estressantes estão presentes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 MILHO

O milho (*Zea mays* L.) é uma das culturas agrícolas mais importantes do mundo, sendo cultivado em larga escala em praticamente todos os continentes. Originário da América Central, o milho foi domesticado há cerca de 9 mil anos por civilizações indígenas, tendo desempenhado papel central nas culturas pré-colombianas. Atualmente, o grão é considerado um dos pilares da segurança alimentar global, ao lado do trigo e do arroz (SOUZA et al., 2020).

Sua versatilidade é um dos principais fatores que explicam sua ampla difusão e importância econômica. O milho pode ser utilizado na alimentação humana, na nutrição animal, na produção de biocombustíveis, na indústria alimentícia e farmacêutica, além de outras aplicações industriais. No Brasil, o milho ocupa posição estratégica tanto no abastecimento interno quanto nas exportações, sendo o segundo maior produtor mundial, atrás apenas dos Estados Unidos (CONAB, 2024).

A produção brasileira de milho se concentra, principalmente, nas regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste, sendo influenciada por fatores como clima, tecnologia empregada e políticas agrícolas. Nos últimos anos, o avanço tecnológico no setor agropecuário, incluindo o uso de sementes geneticamente modificadas e sistemas de plantio direto, tem contribuído significativamente para o aumento da produtividade (EMBRAPA, 2023).

Além de sua relevância econômica, o milho também possui valor social, especialmente para pequenos produtores e comunidades tradicionais, que dependem da cultura para subsistência e renda. Em contextos internacionais, o milho é considerado uma commodity estratégica, com impacto direto nos preços globais de alimentos e na política agrícola de diversas nações (FAO, 2022).

Diante disso, compreender a importância do milho no Brasil e no mundo exige uma abordagem multidimensional, considerando fatores agrônômicos, econômicos, sociais e ambientais. A análise dessa cultura permite não apenas avaliar seu papel na cadeia produtiva global, mas também refletir sobre os desafios da agricultura contemporânea, como a sustentabilidade, a segurança alimentar e a inovação tecnológica.

2.2 MUDANÇAS CLIMÁTICAS

As mudanças climáticas contemporâneas são caracterizadas por alterações duradouras nos padrões climáticos globais, impulsionadas principalmente pelo aumento das concentrações de gases de efeito estufa oriundos de atividades humanas, como queima de combustíveis fósseis, desmatamento e agropecuária intensiva, resultando em aquecimento da superfície terrestre e maior frequência de extremos climáticos (secas, ondas de calor, precipitações intensas). Essas alterações já vêm modificando regimes pluviométricos e térmicos, tornando eventos de seca mais prolongados e calor extremo mais comuns em várias regiões agrícolas do mundo, o que dificulta o planejamento de safras e aumenta a incerteza sobre condições adequadas de cultivo e disponibilidade hídrica para irrigação. Estudos recentes apontam que combinações de secas e calor extremos podem reduzir significativamente a produtividade de culturas essenciais, como milho, com quedas estimadas em dezenas de porcentagem em algumas regiões quando ambos os estresses ocorrem simultaneamente, e com tendência a piorar à medida que o aquecimento prossegue.

Esses impactos não se restringem às perdas de rendimento; mudanças climáticas afetam também a distribuição espacial da agricultura, a incidência de pragas e doenças, a erosão do solo e os ciclos de nutrientes, gerando riscos adicionais à segurança alimentar e à estabilidade socioeconômica de comunidades rurais. A variabilidade climática crescente dificulta a manutenção de calendários agrícolas estáveis e exige adaptações técnicas e institucionais, como desenvolvimento de cultivares mais resistentes ao estresse térmico e hídrico, práticas de manejo de solo e água eficientes, sistemas de alerta precoce e políticas climáticas que reduzam emissões e fortaleçam a resiliência de sistemas produtivos. Sem respostas adaptativas eficazes, projeções indicam que a intensificação de secas, ondas de calor e eventos extremos tornará o cultivo agrícola mais vulnerável, ameaçando metas de produção suficientes para atender à demanda por alimentos de uma população global em crescimento (FARAH et al., 2025)

2.3 ESTRESSE MECÂNICO

O estresse mecânico em plantas refere-se aos danos físicos e às alterações morfofisiológicas causadas por forças externas, tais como ventos fortes, chuvas intensas, granizo, manuseio no campo e o próprio peso da parte aérea quando associado a solos encharcados (BRASIL et al., 2010). No milho (*Zea mays* L.), esses estresses resultam em acamamento radicular ou por quebra de colmo, reduzindo a interceptação luminosa das folhas, prejudicando trocas gasosas e culminando em perdas expressivas de produtividade (SANGOI, 2001; TORRES et al., 2015).

Do ponto de vista anatômico e bioquímico, o estresse mecânico estimula o acúmulo de lignina na parede celular e altera a relação entre celulose e hemicelulose, de modo a reforçar a rigidez do colmo (ALMEIDA et al., 2017). Em nível molecular, genes que codificam enzimas da via da fenilpropanoide — fundamentais para a biossíntese de lignina — são up-regulados em resposta a cargas mecânicas, fortalecendo o eixo da planta (PEREIRA et al., 2018).

No manejo agrônômico, a época de semeadura e a densidade de plantas são estratégias clássicas para minimizar o risco de acamamento: semeaduras muito adiantadas podem expor a planta a ventos e chuvas de alta intensidade durante a fase reprodutiva, enquanto população de plantas acima do ideal eleva a competição por luz e nutrientes, fragilizando o colmo (CARGNELUTTI FILHO et al., 2012; SANGOI, 2001).

Para enfrentar tais desafios, a EMBRAPA Milho e Sorgo desenvolveram a tecnologia ANTECIPE, que consiste na semeadura do milho de segunda safra antes da colheita da soja, por sobresemeadura direta na palhada ainda em campo (EMBRAPA, 2023). Essa abordagem antecipa o ciclo de desenvolvimento em até 20 dias, permitindo que o milho atravesse as fases críticas de alongação e espigamento fora do pico de eventos meteorológicos adversos do final da estação chuvosa, reduzindo significativamente a ocorrência de acamamento (SILVA et al., 2023).

Estudos conduzidos em Mato Grosso do Sul demonstraram que lavouras plantadas com ANTECIPE apresentaram redução de 35% nas frequências de colmos quebrados e 15% a menos de acamamento radicular, quando comparadas à semeadura convencional de safrinha (SILVA et al., 2023). Além disso, a antecipação favoreceu o estabelecimento de sistema radicular mais profundo, aumentando a resistência à força de arrancamento e melhorando a absorção hídrica em períodos de estiagem (PENHA et al., 2024).

Portanto, o entendimento dos mecanismos de resposta ao estresse mecânico — desde alterações na composição da parede celular até ajustes no manejo agrônômico — em conjunto

com inovações tecnológicas como o ANTECIPE, mostra-se fundamental para garantir a estabilidade produtiva e a sustentabilidade dos sistemas de produção de milho no contexto brasileiro de dupla safra.

2.4 ESTRESSE HÍDRICO

O estresse hídrico em plantas ocorre quando a disponibilidade de água no solo é insuficiente para atender à demanda transpiração–fotossíntese, levando a alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas (TAIZ; ZEIGER, 2017). No milho (*Zea mays* L.), as fases de máxima sensibilidade ao déficit hídrico são a do florescimento e do enchimento de grãos, quando há forte redução na taxa de fotossíntese e na mobilização de fotoassimilados, resultando em perdas de rendimento (COELHO et al., 2011; SILVA et al., 2019).

Em nível celular, o estresse hídrico induz o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), causando peroxidação lipídica e danos a proteínas, o que ativa rotas de sinalização envolvendo ácido abscísico (ABA) e outras moléculas mensageiras, reforçando respostas adaptativas como fechamento estomático e síntese de osmoprotetores (MARTINS et al., 2016; PEREIRA et al., 2020). Anatomicamente, observa-se aumento na espessura da epiderme foliar e na densidade de tricomas, reduzindo a perda de água por transpiração (OLIVEIRA et al., 2018).

O déficit hídrico afeta o milho por vários mecanismos integrados como fechamento estomático e a redução da fotossíntese. A resposta estomática diminui a entrada de CO₂, reduzindo a taxa fotossintética e, conseqüentemente, a assimilação de carbono. Isso impacta diretamente a fixação de carbono e o aporte de fotoassimilados aos órgãos de reserva. A menor assimilação de carbono, combinada com maiores perdas respiratórias e com alterações no transporte de elétrons, reduz o enchimento de grãos e aumenta a incidência de grãos vazios. Já na fase de florescimento (reprodutivo) o déficit hídrico reduz a duração da emissão de pólen, afeta a viabilidade de grãos femininos e causa falhas na polinização, essas etapas são altamente determinantes para a produtividade final.

No manejo agrônomo, práticas como irrigação suplementar em pontos críticos do ciclo, ajuste da população de plantas e uso de cultivares tolerantes são fundamentais para mitigar os efeitos do déficit hídrico (CARGNELUTTI FILHO et al., 2012). A EMBRAPA desenvolveu tecnologias de manejo de irrigação por gotas e pivot central adaptadas para o milho safrinha, com protocolos que otimizam o uso da água, garantindo até 25% de economia no consumo hídrico sem comprometer o rendimento (EMBRAPA, 2022).

Além disso, estudos com *mulching* e cultivo em faixas sob plantio direto mostram melhor retenção de umidade no solo e maior estabilidade produtiva em condições de irregularidade pluviométrica (SANTOS et al., 2021). Dessa forma, a integração de respostas fisiológicas, melhoramento genético e técnicas de manejo hídrico constitui abordagem essencial para assegurar a produtividade e a sustentabilidade das lavouras de milho em regiões com restrições de água.

2.5 ANTECIPE

O Sistema Antecipe da Embrapa é uma técnica de cultivo intercalar antecipado para milho safrinha em que a semeadura do milho é realizada mecanicamente nas entrelinhas da soja antes da colheita desta última (até cerca de 20 dias de antecedência), permitindo que o milho avance nos estádios fenológicos em período climático mais favorável. Para viabilizar essa operação sem comprometer a soja, a tecnologia incluiu o desenvolvimento de uma semeadora-adubadora específica (em parceria com a indústria) e protocolos de manejo que evitam danos mecânicos às plantas hospedeiras e ajustam época e cultivares ao contexto regional.

Ao antecipar a emergência e o ciclo do milho, o Antecipe desloca os estádios críticos (florescimento e enchimento de grãos) para um período com maior probabilidade de precipitação e temperaturas mais amenas, reduzindo a exposição da cultura a déficits hídricos tardios e ao risco de geadas; esse ajuste fenológico traduz-se em maior eficiência no uso da água e aumentos significativos de produtividade em testes regionais, tornando-se, portanto, uma ferramenta prática de mitigação do estresse hídrico em sistemas soja-milho.

Além disso, a Embrapa disponibiliza orientações técnicas e ferramentas de apoio à decisão para que produtores escolham o momento e a área mais adequados para a adoção do sistema, o que amplia sua aplicabilidade como estratégia de redução de riscos climáticos na safrinha.

Entretanto, no sistema Antecipe, a passagem das colhedoras de soja pode provocar desfolha mecânica em plântulas de milho semeadas nas entrelinhas quando estas ainda se encontram em estádios iniciais de desenvolvimento; a ação das plataformas e rodados da máquina tende a cortar ou rasgar lâminas foliares. Essa perda de área foliar ocorre por volta do estágio V4 do milho (quatro folhas completamente expandidas), a gema apical permanece abaixo da superfície do solo, protegida, e a diferenciação floral está começando a se iniciar. Assim, o milho não sofre tanto com a perda da parte aérea pois a gema apical irá reestabelecer

seu crescimento através da indução hormonal de crescimento (EMBRAPA, 2022).

2.6 PUTRESCINA

As poliaminas são moléculas de baixo peso molecular, presentes em todas as células vivas, que participam de processos fundamentais ao desenvolvimento vegetal, como divisão celular, alongação e respostas a estresses abióticos e bióticos (BAGNI; WILLIAMS, 1994). Dentre elas, a putrescina (1,4-diaminobutano) destaca-se por seu papel precursor na via de biossíntese de spermidina e espermina, além de atuar diretamente na estabilização de membranas e na regulação osmótica (KUSANO et al., 2008).

Em plantas submetidas a condições adversas, como déficit hídrico ou estresse salino, observa-se aumento na concentração de putrescina endógena, sugerindo seu envolvimento em mecanismos de tolerância (PELEG; BLUMWALD, 2011). A aplicação exógena de putrescina tem sido relatada como bioestimulante, pois pode atenuar o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO), aumentar a atividade de enzimas antioxidantes (como superóxido dismutase e catalase) e manter a integridade das membranas celulares (LI et al., 2017).

No milho (*Zea mays* L.), estudos demonstram que a pulverização foliar de putrescina em estádios críticos — florescimento e enchimento de grãos — promove maior viabilidade dos cloroplastos, eleva a eficiência fotossintética e resulta em aumento de área foliar e massa de grãos (JAHAN et al., 2015). Em condições de estresse hídrico, a putrescina exógena reduz a perda de água através de regulação estomática e estimula a síntese de osmoprotetores, contribuindo para a manutenção do potencial hídrico da planta (SOUZA; OLIVEIRA, 2020).

Além dos efeitos fisiológicos, o uso de putrescina tem impacto agrônomico positivo, com relatos de incremento de até 12% na produtividade de grãos em comparação a testemunhas não tratadas (GOMES et al., 2019). A aplicação pode ser realizada por pulverização foliar ou via fertirrigação, devendo-se ajustar a concentração (geralmente entre 0,5 e 2 mM) e o estágio de desenvolvimento para maximizar os benefícios (FERREIRA; COSTA, 2018).

Dessa forma, a putrescina se configura como um potente bioestimulante para o manejo do milho, auxiliando na melhoria da tolerância a estresses e no incremento produtivo, o que contribui para sistemas agrícolas mais resilientes e sustentáveis.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. S. de et al. Alterações anatômicas e químicas na parede celular de colmos de milho submetidos a estresse mecânico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 41, e0170457, 2017. DOI: 10.1590/18069657rbc20170457.
- BAGNI, N.; WILLIAMS, J. P. The polyamines: pivotal roles in plant growth, development, and stress responses. **Plant Physiology**, v. 100, p. 376–380, 1994.
- BRASIL, J. A.; COSTA, N. M.; LIMA, R. C. Definição e classificação dos estresses abióticos em plantas. In: **Estresses Abióticos em Plantas**, Viçosa: UFV, 2010. p. 15–34.
- CARGNELUTTI FILHO, A. et al. Estabilidade fenotípica de híbridos de milho em relação ao acamamento de colmo e raiz. **Ciência Rural**, v. 42, n. 1, p. 6–12, 2012. DOI: 10.1590/S0103-84782012005000006.
- COELHO, E. F. et al. Déficit hídrico e produção de grãos de milho safrinha. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 7, p. 743–749, 2011. DOI: 10.1590/S1415-43662011000700005.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos: Safra 2023/24 – Quarto levantamento**. Brasília: CONAB, 2024. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/>. Acesso em: 7 maio 2025.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de Irrigação para Milho e Sorgo: tecnologias e práticas. Brasília: **Embrapa**, 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/irrigacao/milho-e-sorgo>. Acesso em: 13 jun. 2025.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Tecnologia Antecipe: milho de segunda safra semeado antes da colheita da soja. Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/antecipe>. Acesso em: 10 jun. 2025.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Tecnologias para a produção de milho no Brasil. Brasília: **EMBRAPA**, 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/>. Acesso em: 7 maio 2025.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **World Food and Agriculture Statistical Yearbook 2022**. Rome: FAO, 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/statistics>. Acesso em: 7 maio 2025.
- FERREIRA, L. S.; COSTA, M. A. Métodos de aplicação de putrescina em cultura de milho. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 13, n. 4, p. 451–458, 2018. DOI: 10.5039/agraria.v13i4a6184.
- GOMES, R. F. et al. Efeito da putrescina na produtividade de grãos de milho em condição de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, e01123, 2019. DOI: 10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.01123.
- JAHAN, M. S. et al. Exogenous putrescine improves drought tolerance in *Zea mays* L. through modulation of antioxidant defense and osmoprotectant accumulation. **Journal of Plant Interactions**, v. 10, n. 1, p. 123–131, 2015. DOI: 10.1080/17429145.2014.984123.
- KUSANO, T. et al. Polyamines: essential factors for growth and survival. **Planta**, v. 228, n. 3, p. 367–381, 2008. DOI: 10.1007/s00425-008-0749-1.
- LI, X.; WANG, Y.; LI, Y. Role of putrescine in plant responses to abiotic stress. **Plant Science**, v. 258, p. 1–9, 2017. DOI: 10.1016/j.plantsci.2016.12.009.
- MARTINS, M. A.; SANTOS, D. V.; LIMA, E. A. Respostas fisiológicas do milho ao estresse hídrico: papel do ácido abscísico. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 2, p. 212–220, 2016. DOI: 10.5935/1806-6690.20160023.

OLIVEIRA, P. R. et al. Anatômica-mente adaptativa: modificações em folhas de milho submetidas a déficit hídrico. **Boletim de Indústria Animal**, v. 75, n. 4, p. 387–396, 2018. DOI: 10.17523/bia.v75n4p387.

PELEG, Z.; BLUMWALD, E. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 290–295, 2011. DOI: 10.1016/j.pbi.2011.03.001.

PEREIRA, L. M. et al. Expressão gênica de enzimas da via fenilpropanoide em raízes de milho submetidas a estresse mecânico. **Genetics and Molecular Biology**, v. 41, n. 2, e20170312, 2018. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2017-0312.

PEREIRA, L. M. et al. Expressão gênica de osmoprotetores em milho sob estresse hídrico. **Genetics and Molecular Biology**, v. 43, n. 1, e20190312, 2020. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2019-0312.

PENHA, M. B. R. et al. Sistema radicular do milho em cultivo antecipado: impactos na resistência ao arrancamento. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 18, n. 1, p. 45–53, 2024.

SANTOS, R. F.; ALMEIDA, C. A.; FERREIRA, L. S. Mulching e plantio direto na retenção de umidade do solo em cultivo de milho safrinha. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 15, n. 3, p. 310–321, 2021. DOI: 10.7127/rbai.v15n300310.

SANGOI, L. Os principais fatores que influenciam o acamamento do milho. **Informativo Agropecuário**, v. 22, n. 206, p. 29–32, 2001.

SILVA, D. M. da; OLIVEIRA, J. P.; FERNANDES, G. M. Impacto do estresse hídrico no rendimento de grãos de milho em safrinha. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 17, n. 4, p. 220–229, 2019. DOI: 10.7127/rbai.v17n402203.

SILVA, D. M. da; OLIVEIRA, J. P.; FERNANDES, G. M. Impacto da tecnologia ANTECIPE no controle de estresses abióticos em milho safrinha. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 17, n. 2, p. 134–142, 2023. DOI: 10.7127/rbai.v17n2002302.

SOUZA, A. L.; FERREIRA, M. R.; OLIVEIRA, T. J. A importância socioeconômica do milho no Brasil e no mundo. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 43, n. 1, p. 12–21, 2020. DOI: 10.1590/rca.v43n1.2020.

SOUZA, D. M. de; OLIVEIRA, J. P. Putrescina exógena no manejo de estresse hídrico em milho safrinha. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 18, n. 2, p. 201–210, 2020. DOI: 10.7127/rbai.v18n2020207.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TORRES, F. E. et al. Influência do acamamento na produtividade e qualidade de híbridos de milho. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 2, n. 4, p. 1–7, 2015.

ARTIGO 1: AÇÃO DA PUTRESCINA E O EFEITO DO DÉFICIT HÍDRICO ALTERA A MORFOFISIOLOGIA DE PLANTAS DE MILHO SOB DESFOLHA?

¹Guilherme Corrêa Rodrigues, ¹Thiago Corrêa de Souza*

¹Institute of Nature Sciences - ICN, Federal University of Alfenas –UNIFAL-MG, 700, Gabriel Monteiro Street, P. O. Box 37130-001, Alfenas, MG, Brazil; thiago.souza@unifal-mg.edu.br, ORCID: 0000-0002-4991-7704 *Corresponding author.

RESUMO

O déficit hídrico ocorrendo juntamente com a desfolha são tipos de estresses nos quais as plantações de milho (*Zea mays* L.) estão suscetíveis, e não há estudos na literatura investigando ambos os estresses nos estágios iniciais de desenvolvimento do milho. Mudanças climáticas têm aumentado nas últimas décadas trazendo consigo a secas e chuvas de granizo, levando a perdas de produção. A fim de amenizar os efeitos que estes estresses causam no milho destacam-se as poliaminas como a putrescina, que ajuda na proteção contra danos oxidativos e auxilia no desenvolvimento celular. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar as alterações morfofisiológicas e bioquímicas na aplicação exógena de putrescina 50 µM em plantas sob desfolha submetidas ao déficit hídrico. O experimento foi realizado em vasos, e as plantas foram submetidas a quatro tratamentos com a desfolha no estágio de quatro folhas totalmente expandidas: irrigado sem putrescina e irrigado com putrescina, déficit hídrico sem putrescina e déficit hídrico com putrescina. Parâmetros morfométricos, como trocas gasosas, fluorescência da fotossíntese, morfologia das raízes e conteúdo de nutrientes, foram avaliados aos sete dias após o déficit hídrico. As plantas de milho desfolhadas e irrigadas, em comparação com as plantas desfolhadas sob déficit hídrico apresentaram menor altura, diâmetro do caule, comprimento, nutrientes e menores valores em dados morfológicos das raízes. A aplicação da putrescina gerou valores menores na concentração de alguns nutrientes, porém sua aplicação não apresentou diferenças na produção nem efeitos deletérios nas plantas, não demonstrando grandes benefícios na recuperação do milho desfolhado sob o déficit hídrico.

Palavras-chave: Antecipe; Estresse hídrico; Estresse mecânico; *Zea mays* L.;

ABSTRACT

Water deficit occurring together with defoliation are types of stress to which maize (*Zea mays* L.) crops are susceptible, and there are no studies in the literature investigating both stresses during the early stages of maize development. Climate change has increased in recent decades, bringing droughts and hailstorms that lead to yield losses. To mitigate the effects these stresses cause in maize, polyamines such as putrescine stand out, as they help protect against oxidative damage and assist cellular development. Thus, the objective of this study was to determine the morphophysiological and biochemical changes resulting from the exogenous application of 50 μ M putrescine to defoliated plants subjected to water deficit. The experiment was conducted in pots, and the plants were subjected to four treatments with defoliation at the four fully expanded leaves stage: irrigated without putrescine, irrigated with putrescine, water deficit without putrescine, and water deficit with putrescine. Morphometric parameters such as gas exchange, chlorophyll fluorescence, root morphology, and nutrient content were evaluated seven days after the onset of the water deficit. Defoliated and irrigated maize plants, compared with defoliated plants under water deficit, showed lower height, stem diameter, root length, nutrient content, and lower values for root morphological traits. Putrescine application produced lower concentrations of some nutrients; however, its application did not result in differences in yield nor cause deleterious effects on the plants, showing no significant benefits for the recovery of defoliated maize under water deficit.

Keywords: Putrescine; Water deficit; Mechanical stress; *Zea mays* L.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma *commodity* e um dos cereais de maior produtividade em todo mundo. Esta cultura desempenha um papel de destaque, sendo predominantemente empregada na alimentação humana e na produção de rações para o setor de produção animal. No Brasil, a produção da safra 2022/2023 chega a 131.865,9 mil toneladas (CONAB, 2023). Por seu cultivo abrangente, o milho é uma cultura considerada global, e o milho brasileiro está ganhando crescente proeminência no cenário internacional de comércio agrícola ocupando a terceira posição como produtor mundial de milho e o maior exportador desse cereal (COELHO, 2023).

No decorrer do crescimento e desenvolvimento, as plantas de milho podem estar susceptíveis a vários fatores ambientais, como os estresses bióticos e abióticos (ARSHAD, 2022). Dentre estes estresses, destacam-se o déficit hídrico e o dano mecânico. O dano mecânico pode ser ocasionado por intempéries climáticas ou o tráfego por maquinários agrícolas, além de pragas e doenças, causando perda na parte aérea denominada desfolha (SILVA et al., 2021). Normalmente, estes estresses costumam afetar negativamente o rendimento final do milho. No entanto, milhos desfolhados no estágio V4 (quarta folha totalmente desenvolvida) conseguem recuperar o crescimento e acumular biomassa, mesmo apresentando menor altura e diâmetro de colmo o que demonstra certa resiliência nessa espécie. Essa recuperação ocorre devido à produção de fitormônios e à preservação da zona meristemática foliar abaixo do solo até o estágio V6 (sexta folha totalmente desenvolvida), o que direciona as reservas energéticas de desenvolvimento radicular para a regeneração da parte aérea (FERREIRA et al., 2024).

A EMBRAPA Milho e Sorgo desenvolveu a tecnologia ANTECIPE, que antecipa em até 20 dias o plantio do milho de segunda safra ao permitir a sobressemeadura direta sobre a palhada de soja ainda em campo, deslocando as fases críticas do ciclo para fora do pico de eventos adversos e reduzindo o acamamento (EMBRAPA, 2023; SILVA et al., 2023). Em Mato Grosso do Sul, esse manejo diminuiu em 35% os colmos quebrados e em 15% o acamamento radicular, além de estimular raízes mais profundas, com maior resistência ao arrancamento e melhor absorção de água em estiagens (PENHA et al., 2024; SILVA et al., 2023). Essa inovação, aliada ao entendimento das respostas ao estresse mecânico, é crucial para a estabilidade produtiva e a sustentabilidade da dupla safra de milho no Brasil.

O déficit hídrico pode levar à diminuição da produtividade devido a alterações em suas funções metabólicas resultando em uma redução na capacidade de absorção efetiva de

luz, devido à produção reduzida, de pigmentos fotossintéticos e emissão de fluorescência pelas clorofilas (ARSHAD, 2022). O déficit hídrico desencadeia mudanças nas plantas, afetando a fotossíntese, a respiração e o crescimento celular (CAMPOS; SANTOS; NACARATH, 2021). As plantas, quando expostas a esse estresse, reagem ajustando os níveis de proteínas e metabólitos como açúcares, ácidos orgânicos presentes na respiração celular, a fim de aumentar os mecanismos de defesa (PARIDA; PANDA; RANGANI, 2018).

Os efeitos morfofisiológicos do déficit hídrico ocorrendo juntamente com o estresse mecânico de desfolha nos estádios iniciais de desenvolvimento do milho ainda não são conhecidos. Compreender as respostas das plantas de milho a esses estresses é fundamental para desenvolver estratégias de manejo eficazes que minimizem perdas de produtividade. Isso inclui a implementação de medidas para mitigar os impactos negativos do déficit hídrico e do estresse mecânico.

Baseado neste contexto, existem diversos métodos que visam diminuir o impacto de estresses abióticos nas plantas, como a aplicação direta de bioestimulantes (NANDY, 2023). As poliaminas são bioestimulantes e estão relacionadas com a estabilização e proteção das membranas biológicas, que são suscetíveis a danos oxidativos causados por diversos tipos de estresses abióticos (CHEN, 2019). A putrescina é um bioestimulante orgânico naturalmente presentes em todas as células das plantas. Desempenha papéis essenciais em diversos processos fisiológicos como desenvolvimento radicular, divisão celular, mecanismo fotossintético e de defesa e a capacidade de induzir resposta à estresses (SANTANEN, 2000; CHEN, 2019; KAMIAB, 2020). A aplicação externa de putrescina, pode contribuir para aumentar a tolerância do milho ao déficit hídrico e à desfolha. Isso ocorre por meio da ativação de mecanismos de defesa antioxidante, da indução da produção de fitohormônios e da regulação do metabolismo interno de poliaminas sob estresse hídrico (AHANGIR et al., 2020).

Pensando no papel crucial de segurança alimentar e a sustentabilidade agrícola em escala global, a presente pesquisa visa entender como o milho responde a estresses ambientais, como o déficit hídrico e a desfolha, e se o uso bioestimulantes como a putrescina poderia amenizar esses estresses nas plantas. O estudo avança o entendimento do metabolismo do carbono, abordando a escassez de pesquisas sobre a interação entre estresses combinados e os efeitos de bioestimulantes na fisiologia e bioquímica das plantas.

2. METODOLOGIA

2.1. Condições de crescimento, imposição dos estresses e delineamento experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Unidade Educacional Santa Clara da Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG, localizada na cidade de Alfenas, no estado de Minas Gerais, Brasil, altitude de 818 m, coordenadas geográficas 21° 25' 20'' S e 45° 59' 00'' W.

As plantas de milho foram cultivadas em 6 vasos por tratamento com capacidade de 20 litros. O solo utilizado foi coletado em até 20 cm de profundidade a partir da superfície e submetido a análises de atributos químicos e físicos antes da implementação do ensaio experimental. Foi realizada a correção de macro e micronutrientes, segundo a recomendação de Ribeiro (1999) para esta cultura. Durante todo o ciclo do milho foi realizado os tratos culturais e fitossanitários necessários para esta cultura.

Tabela 1 – Composição química do solo coletado na camada de 0 a 20 cm utilizado para o experimento.

pH	P	K	Al	Ca	Mg	H ⁺ Al	SB*	T*	V*	M*	O.M.
H ₂ O	-----mg dm ⁻³ -----			-----cmol _c dm ⁻³ -----			-----%-----		dag kg ⁻¹		
5.5	1.0	0.3	0.0	10.0	5.0	18.0	15.3	33.3	46.0	0	13.0

Legenda; Métodos de extração: pH: água; M.O.: S. Sulfurosa; P, K, Cu, Fe, Mn, Zn: Mehlich I; Ca, Mg, Al: KCl; H+Al: Tampão SMP; B: Água Quente.

*Soma das Bases (SB); capacidade de troca catiônica – potencial CTC (T); índice de Saturação de Bases (V); saturação de alumínio (M).

Com base nos resultados da análise de solo e nas exigências nutricionais do milho, foi feito uma adubagem de 18% de P₂O₅ conforme descrito por Alvarez e Ribeiro (1999), e uma formulação de NPK na proporção 20:5:20. Em cada vaso, foram plantadas quatro sementes de milho; após a emergência, realizou-se o desbaste, mantendo duas plantas por vaso. No estádio V3 das plantas (MAGALHÃES; DURÃES, 2006), foi realizada a adubação utilizando 100 mg dm³ de fertilizante 11-52-00 e 156 mg dm³ de 00-00-60 (NPK), além de 1 mg dm³ de ácido bórico (P.A.), 2,5 mg dm³ de cloreto de zinco (P.A.) e 5 mg dm³ de sulfato de manganês (P.A.) por vaso. Realizaram-se três aplicações de cobertura com 20 mg dm³ de ureia (45-00-00) e uma aplicação com 1 mg dm³ de ácido bórico (P.A.).

O híbrido de milho selecionado para semeadura foi KWS 9606 desenvolvido pela KWS SAAT SE & Co. KGaA[®], com alto vigor e potencial produtivo já comercializados. Foram semeadas 4 sementes em cada vaso e após a germinação, houve o desbaste, permanecendo somente 2 plantas de milho por vaso. A putrescina utilizada nos tratamentos também é de origem comercial, originada da Merck KGaA[®].

Quando as plantas atingiram o estágio V4 (quarta folha totalmente desenvolvida) dezesseis dias após o plantio, as plantas de milho foram submetidas ao estresse mecânico por desfolha. A desfolha foi realizada em todas as plantas do experimento com o auxílio de uma tesoura adotando como altura de corte 5 cm acima da superfície do solo, eliminando toda a parte aérea das plantas.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, constando duas condições hídricas – com irrigação (IR) e déficit hídrico (WD) e duas condições de aplicação – com putrescina (PA) e sem aplicação de putrescina (WPA). O número de repetições para cada tratamento foram seis.

As aplicações da putrescina ocorreram em dois momentos: no estágio V4 (quarta folha totalmente desenvolvida), 24 horas antes da desfolha e doze dias após a desfolha. A concentração de putrescina foi de 50 μM (MOHAMMADI-CHERAGHABADI). A aplicação ocorreu através de um pulverizador manual de forma que toda a superfície foliar da planta entrasse em contato com o bioestimulante.

O teor de água no solo foi monitorado de sensores de umidade modelo GB Reader N1535 (Measurement Engineering, Austrália) instalados no centro de cada vaso, a uma profundidade de 10 cm para cálculos de reposição hídrica. Todos os tratamentos foram mantidos em capacidade de campo (CC) (tensão de água no solo de -18 kPa) durante o período que antecedeu a imposição do déficit hídrico. Os vasos foram periodicamente rotacionados para minimizar a influência do ambiente e mantidos com umidade correspondente a 80% da capacidade de campo até que as plantas alcançassem o estágio V4 de desenvolvimento, caracterizado pela completa expansão da quarta folha. Em seguida, as plantas submetidas ao tratamento de déficit hídrico foram mantidas por 14 dias com umidade reduzida a 50% da capacidade de campo. O monitoramento da umidade do solo (m^3 de água por m^3 de solo) foi realizado diariamente entre 09:00 e 15:00 h, com auxílio de uma sonda TEROS 10 (Meter Group, Inc.), conectada a um leitor do sensor ZSC Bluetooth[®] Sensor Interface (Meter Group, Inc.).

2.2. Análise biométrica

As medições biométricas ocorreram aos 26 dias após a desfolha, correspondendo ao estágio fenológico V8 (oitava folha totalmente expandida) das plantas. Durante a análise, foram avaliados os seguintes parâmetros: altura da planta (medida desde a superfície do solo até a extremidade da folha mais jovem completamente expandida), diâmetro do caule (avaliado no primeiro entrenó acima do solo).

2.3. Análise de macro e micronutrientes

A análise de nutrientes foi conduzida seguindo os protocolos padrão estabelecidos para laboratórios de análises foliares, conforme as orientações descritas por Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). A coleta da parte aérea em cada tratamento ocorreu no estágio fenológico R6 (Maturidade Fisiológica). Os teores dos macros e micronutrientes nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês, zinco, enxofre e boro foram determinados, expressos em gramas de nutrientes por quilo de matéria seca. O teor de cada nutriente (mg g^{-1}) foi multiplicado pela biomassa seca total da parte aérea da planta para obter o teor bioacumulado ($\text{g de nutriente} \times \text{Kg de parte aérea}^{-1}$).

2.4. Análise de trocas gasosas foliares

As curvas da taxa fotossintética líquida (A) em resposta à densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (PAR) foram obtidas utilizando um analisador de trocas gasosas por infravermelho (IRGA LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, NE, EUA). As medições foram realizadas na mesma folha usada para as análises pontuais, considerando três plantas por tratamento. Os valores de PAR aplicados foram 1800, 1000, 500, 200, 100, 50, 25 e 0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com cada nível mantido por 5 minutos, sob temperatura de 28°C e concentração ambiente de CO_2 (aproximadamente 380 $\mu\text{mol mol}^{-1}$). As curvas foram registradas 20 dias após a desfolha.

Os dados foram ajustados a um modelo de função hiperbólica retangular:

$$A = a + \frac{(A_{max} \times PAR)}{(b + PAR)}$$

Onde A_{\max} representa a taxa máxima de fotossíntese líquida, enquanto a e b são coeficientes de ajuste. A partir dessas curvas, foram determinados os seguintes parâmetros: taxa máxima de fotossíntese líquida (A_{\max}), taxa de respiração no escuro (R_d , obtida em folhas previamente adaptadas ao escuro), ponto de compensação de luz (LCP) e ponto de saturação de luz (LSP).

O rendimento quântico aparente (α) foi estimado por regressão linear na região inicial da curva ($0 \leq \text{PAR} \leq 200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), utilizando a equação:

$$A = c + (\alpha \times \text{PAR})$$

Onde c e α são coeficientes de ajuste da equação.

As análises de trocas gasosas, foram realizadas aos 26 dias após a desfolha com o mesmo analisador de trocas gasosas por infravermelho. As medições ocorreram pela manhã, entre 8h e 11h, em uma área foliar de 6 cm², com fluxo de ar na câmara contendo CO₂ a uma concentração de 380 mmol mol⁻¹. A densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (PPFD) foi de 1300 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, e a temperatura da câmara foi mantida a 28 °C. Foram determinados a taxa fotossintética líquida (A), a condutância estomática (g_s), a concentração intercelular de carbono (C_i) e a transpiração (E). Com base nos valores de A e C_i , calculou-se a eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i), enquanto os valores de A e E permitiram determinar a eficiência no uso da água (A/E , WUE).

2.5. Análise de Fluorescência da Clorofila *a*

A avaliação dos parâmetros de fluorescência da clorofila (*a*) foi realizada aos 26 dias após a desfolha utilizando um fluorômetro modulado Mini-PAM (Heinz Walz, Effeltrich, Alemanha). As amostras foram submetidas a 30 minutos de adaptação ao escuro antes das medições. Nesse estado, a fluorescência mínima (F_o) foi registrada sob luz de baixa intensidade, suficiente para evitar reações fotoquímicas. Já a fluorescência máxima (F_m) foi obtida aplicando-se um pulso de luz saturante com intensidade de 7000 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 0,8 segundos. A eficiência máxima do fotossistema II (PSII) foi calculada pela relação F_v/F_m nas condições de adaptação ao escuro.

Após essa etapa, as folhas foram expostas a luz actínica com intensidade de 1500 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Durante essa iluminação, registrou-se a fluorescência constante (F_s), e

um novo pulso de luz saturante foi aplicado por 1 segundo para determinar a fluorescência máxima sob luz (F_m'). Em seguida, a luz actínica foi desligada, e as folhas foram irradiadas com luz de extremo vermelho para medir a fluorescência mínima adaptada à luz (F_o').

A partir desses dados, o quenching fotoquímico (qP) foi determinado pela fórmula $qP = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_o')$, enquanto o quenching não fotoquímico (NPQ) foi calculado como $NPQ = (F_m - F_m') / F_m'$. Também foram analisados outros parâmetros, incluindo a taxa de transporte de elétrons (ETR), obtida como $[(F_m' - F_s) / F_m'] \times PPFD \times 0,5 \times 0,84$; o rendimento quântico efetivo do PSII (YII), dado por $(F_m' - F_s) / F_m'$ ou $\Delta F / F_m'$; o rendimento quântico de dissipação de energia regulada no PSII (YNPQ), calculado como $(F_s / F_m') - (F_s / F_m)$; e o rendimento quântico de dissipação de energia não regulada no PSII (YNO), representado por F_s / F_m . Esses cálculos seguem as metodologias propostas por van Kooten e Snel (1990) e Genty et al. (1996).

2.6. Atributos morfológicos da raiz e parte aérea

As raízes foram coletadas em 26 dias após a desfolha. Para a análise da morfologia do sistema radicular foi utilizado o sistema de análise de imagens WinRhizo Pro 2007a (Regent Instruments, Sainte-Foy, QC, Canadá) acoplado a um scanner profissional (Epson, Expression 10000 XL, Epson America, Inc., USA) equipado com unidade de luz adicional (TPU). Os procedimentos para a obtenção das imagens feitos de acordo com Marques et al. (2023) após sete dias das plantas submetidas ao estresse, em seis repetições por tratamento. Foram determinadas as seguintes características: comprimento de raiz (RL) (cm), área de superfície de raiz (SA) (cm²), diâmetro médio de raiz (RMD) (mm) e volume de raiz (RV) (cm³). O comprimento radicular, área de superfície e volume de raiz também foram analisados por classes de diâmetro sendo raízes muito finas (< 0,5 mm), raízes finas (> 0,5 < 2.0 mm) e raízes grossas (> 2.0 mm) pelo mesmo software. Em seguida as raízes foram armazenadas em sacos de papel e transportadas para uma estufa de circulação forçada de ar a 65 °C até obtenção de massa constante. Outros atributos envolvendo dados morfológicos e de massa seca foram feitos: a relação entre massa seca radicular e massa seca da parte aérea (RDW/SDW g g⁻¹), comprimento específico de raiz (SRL cm g⁻¹), finura de raiz (RF cm cm³) e densidade de tecido de raiz (RMDe g cm³).

A parte aérea foi coletada aos 26 dias após a imposição da desfolha e no término do ciclo do milho. Assim, esta parte aérea das plantas foi acondicionada em sacolas de papel e

submetida à secagem em estufa com circulação forçada de ar, a 65°C, durante 72 horas, onde depois foi avaliada a massa seca.

2.7. Componentes de produção

Na maturidade fisiológica, foram analisados: rendimento de grãos (RY), peso de espiga (EAW), diâmetro da espiga (ED), número de grãos por fileira (NGF), peso de 100 sementes (W100), peso de grãos por espiga (PGE) e índice de colheita (HI) [peso seco do grão/(peso seco da planta+peso seco do grão)*100 (Durães et al., 2002).

2.8. Extração e análise de metabólitos primários

As amostras de parte aérea e raiz para essa análise foram coletadas também aos 26 dias após a desfolha e armazenadas em freezer -80 °C. Posteriormente, 200 mg de cada material vegetal foram triturados em 2 mL de uma solução MCW (metanol:clorofórmio:água, 12:5:3 v:v:v) e incubadas em temperatura ambiente por 24 horas. Após esse período, as amostras foram centrifugadas por 30 minutos a 1.500 ×g, e o sobrenadante foi misturado com clorofórmio e água (4:1:1,5 v:v:v). A fase aquosa foi coletada após 24 horas e usada para a análise de açúcares solúveis e açúcares redutores e aminoácidos totais. O pellet precipitado no tubo após a centrifugação foi incubado em ácido perclórico 30% (PCA) (MOCREADY et al., 1950) para a quantificação de amido.

Para açúcares redutores, foi utilizado uma reação com ácido 3,5 dinitrosalicílico na presença do tartarato de sódio e potássio (sal de Rochelle) em meio alcalino (MILLER, 1959). A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 540 nm. Para os açúcares totais foi utilizado o método de antrona baseado na ação hidrolítica e desidratante do ácido sulfúrico concentrado sobre os carboidratos es solúveis totais e amido foi realizada conforme metodologia descrita por Yemm e Willis (1955). A quantificação de proteínas seguiu o método proposto por Bradford (1976) e a quantificação de aminoácidos foi realizada segundo Yemm e Cocking (1955).

2.9. Análise da atividade enzimática antioxidante

A realização da análise enzimática nas folhas foi feita no material coletado aos 26 dias após a desfolha de acordo com Souza et al. (2012), e o sobrenadante resultante foi utilizado nas análises das enzimas antioxidantes. As atividades das enzimas foram avaliadas em

espectrofotômetro e expressas por miligramas (mg) de proteínas que foram determinadas pelo método de Bradford (1976) utilizando uma curva padrão de albumina de soro bovina (BSA).

A atividade da dismutase do superóxido (SOD, EC 1.15.1.1) foi avaliada pela capacidade em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT), proposta por Giannopolitis e Ries (1977). A atividade da catalase (CAT, EC 1.11.1.6) foi determinada pelo consumo de H₂O₂ a 240 nm por 3 minutos (Havir e Mchale 1987). A atividade da peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11) foi determinada pelo acompanhamento da oxidação do ascorbato a 290 nm por 3 minutos (Nakano e Asada 1981). A atividade da peroxidase do guaiacol (GPX, EC 1.11.1.7) foi determinada pela oxidação do guaiacol a 470 nm segundo Lin e Wang (2002) com modificações. A glutathiona redutase (GR, EC 1.6.4.2) foi mensurada com base na oxidação do NADPH, acompanhada a 340 nm por um período de 3 minutos, utilizando um coeficiente de extinção de 6,2 mM⁻¹ cm⁻¹. As análises foram realizadas conforme a metodologia descrita por García-Limones et al. (2002). A redutase do deidroascorbato (DHAR, EC 1.15.1.1) foi determinada por meio da conversão do deidroascorbato (DHA) em ácido ascórbico, mediada pelo GSH, com detecção a 265 nm e coeficiente de extinção de 14 mM⁻¹ cm⁻¹, seguindo o protocolo estabelecido por Hossain e Asada (1984).

A peroxidação lipídica foi avaliada por meio da quantificação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), seguindo o método descrito por Cakmak & Horst (1991). Para a análise, 250 µL do sobrenadante foram misturados a 1 mL da solução de reação, composta por 0,5% (p/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10% (p/v) de ácido tricloroacético (TCA). A mistura foi incubada a 90°C por 20 minutos e, em seguida, resfriada rapidamente em gelo por 10 minutos para interromper a reação. A absorção das amostras foi medida em um espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 535 nm e 600 nm. O TBA reage com aldeídos de baixa massa molecular, como o malonodialdeído (MDA), um subproduto da peroxidação lipídica, formando complexos de coloração avermelhada. A concentração do complexo MDA/TBA foi determinada pela equação: $[MDA] = (A_{535} - A_{600}) / (\xi \cdot b)$, onde ξ é o coeficiente de extinção = 1,56* 10⁻⁵ cm⁻¹, e b: comprimento ótico=1. A peroxidação foi expressa em µmol de MDA g⁻¹ MF.

2.10. Análise dos dados

As médias e o erro padrão das médias das 6 repetições foram calculados para todos os parâmetros avaliados. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott, com nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Sisvar, versão 5.8 - Build 92 (Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil).

3. RESULTADOS

Nas análises biométricas das plantas de milho desfolhadas percebe-se que o fator condição hídrica quando considerado isoladamente resultou em maiores valores de altura e diâmetro de colmo nas plantas submetidas à irrigação (IR e IRPUT) em comparação às plantas em déficit hídrico (Figura 1) (Tabela 2).

No que tange ao bioestimulante, a aplicação de putrescina sob déficit hídrico (WDPUT) elevou significativamente a média de altura das plantas em relação ao tratamento sem putrescina (WD), mas não alterou o diâmetro do colmo entre esses dois níveis. Sob irrigação, não houve diferenças significativas na altura e diâmetro de colmo entre os tratamentos com (IRPUT) e sem putrescina (IR) (Figura 1) (Tabela 2).

Fig. 1: Dados morfológicos de altura e diâmetro das plantas de milho que foram desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT) em 26 dias após a desfolha.

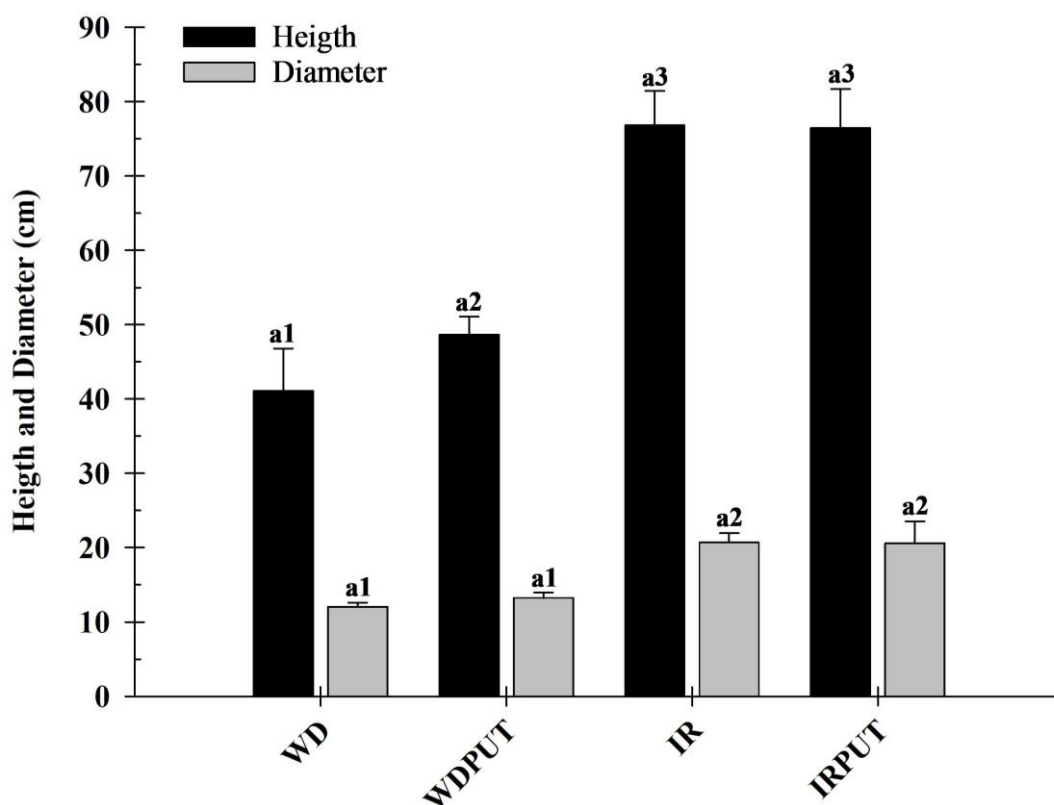


Tabela 2 – Altura e diâmetro das plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT) em 26 dias após a desfolha.

BIOMETRIC ASSESSMENTS				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Height	41.08 ± 5.72 a1	48.62 ± 2.44 a2	76.45 ± 4.61 a3	76.83 ± 5.25 a3
Stem diameter	12.02 ± 0.59 a1	13.23 ± 0.71 a1	20.58 ± 1.24 a2	20.69 ± 2.92 a2

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 5).

A massa seca de folhas e raízes foi significativamente maior nos tratamentos sob irrigação (IR e IRPUT) do que sob déficit hídrico (WD e WDPUT). Em ambos os tecidos, a aplicação de putrescina sob déficit hídrico (WDPUT) não diferiu estatisticamente do tratamento sem putrescina (WD), assim como, sob irrigação, IRPUT não se distinguiu de IR (Tabela 3).

Tabela 3 – Massa seca de folhas e raízes em plantas de milho desfolhadas sob diferentes condições de irrigação: déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT), material vegetal coletado 26 dias após a desfolha.

DRY MASS				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Leaves	19.40 ± 2.32 a1	20.60 ± 2.08 a1	45.75 ± 7.30 a2	46.80 ± 6.56 a2
Root	9.12 ± 0.63 a1	9.31 ± 0.49 a1	12.18 ± 3.51 a2	13.42 ± 1.57 a2

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 5).

A concentração de fósforo (P) e potássio (K) diminuiu progressivamente de WD, WDPUT, IR e IRPUT, indicando efeito aditivo de irrigação e putrescina. O nitrogênio (N) também foi menor sob irrigação com putrescina (IRPUT) em relação aos demais tratamentos. Em contraste, o ferro (Fe) acumulou-se mais em IR do que em WD e, mesmo reduzido pela putrescina (IRPUT), permaneceu acima dos níveis em WD e WDPUT. Para os outros elementos (Ca, Mg, S, B, Cu, Mn e Zn) não houve diferenças estatísticas relevantes entre os tratamentos (Tabela 4).

Fig. 1: Nutrientes bioacumulados na parte aérea das plantas de milho desfolhadas na condição irrigado (IR) e déficit hídrico (WD), com aplicação de putrescina (PA) e sem aplicação de putrescina (WPA). Fósforo (A), enxofre (B), cobre (C), ferro (D) e zinco (E). Letras minúsculas comparam a condição de aplicação de putrescina dentro de cada condição hídrica. Letras maiúsculas comparam os tratamentos de condição hídrica dentro de cada condição de aplicação de putrescina (n = 6).

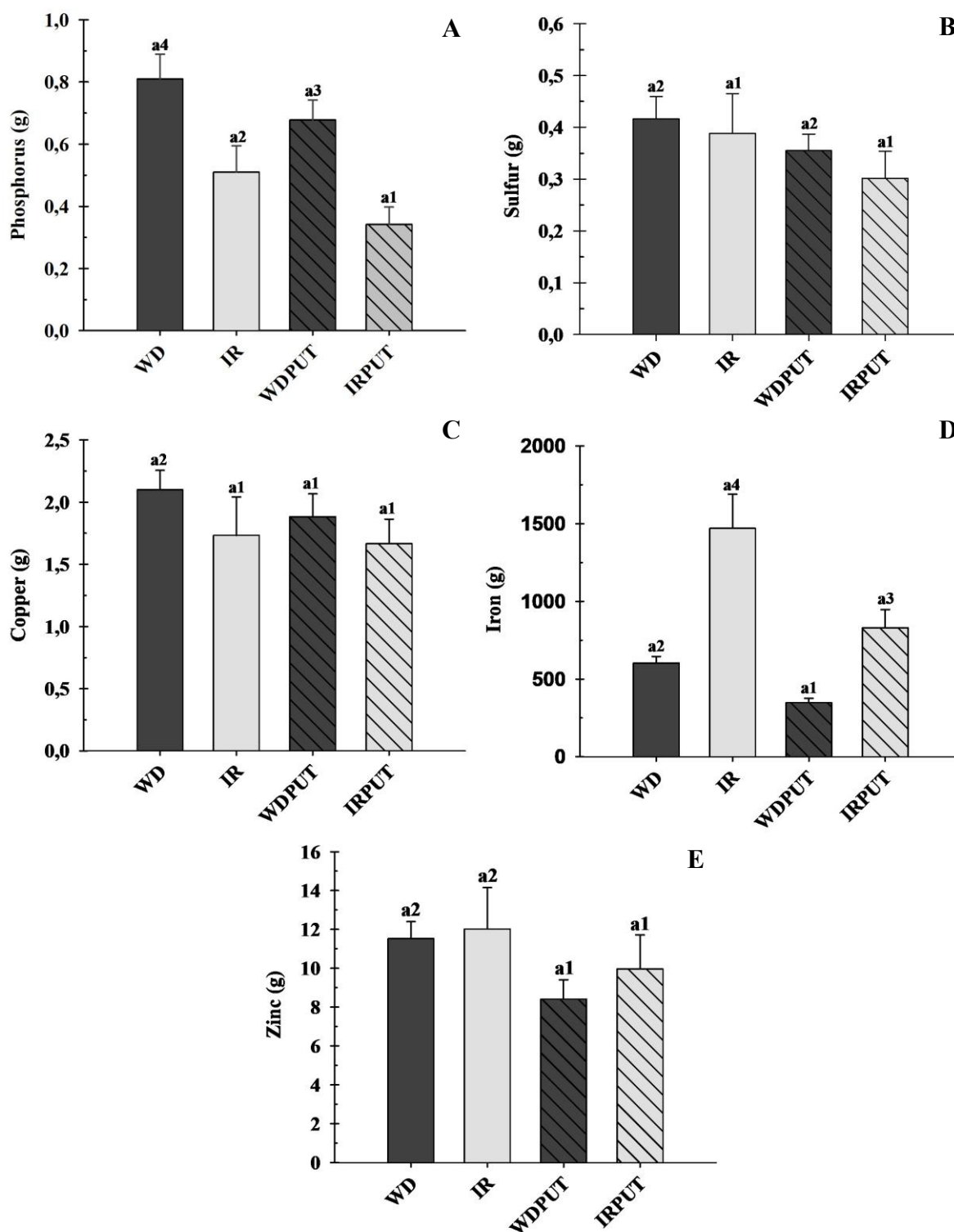


Tabela 4 – Concentração dos nutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) bioacumulados na parte aérea em plantas de milho desfolhadas sob as condições déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

BIOACCUMULATED MACRO AND MICRONUTRIENTS				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
N	4.29 ± 0.50 a2	4.31 ± 0.29 a2	3.89 ± 0.39 a2	3.36 ± 0.25 a1
P	0.81 ± 0.08 a4	0.67 ± 0.06 a3	0.51 ± 0.08 a2	0.34 ± 0.06 a1
K	8.77 ± 0.57 a2	8.14 ± 0.48 a2	7.47 ± 1.00 a2	5.82 ± 1.07 a1
Ca	3.45 ± 0.49 a1	3.03 ± 0.27 a1	4.02 ± 0.60 a2	3.09 ± 0.62 a1
Mg	1.35 ± 0.19 a1	1.31 ± 0.11 a1	1.89 ± 0.26 a2	1.53 ± 0.27 a1
S	0.41 ± 0.04 a2	0.35 ± 0.03 a1	0.38 ± 0.08 a2	0.30 ± 0.05 a1
B	19.20 ± 1.91 a1	17.16 ± 1.57 a1	17.08 ± 1.46 a1	15.96 ± 2.33 a1
Cu	2.10 ± 0.15 a2	1.88 ± 0.18 a1	1.73 ± 0.31 a1	1.66 ± 0.20 a1
Fe	603.40 ± 42.50 a2	348.92 ± 27.45 a1	1470.20 ± 218.75 a4	830.34 ± 116.97 a3
Mn	46.05 ± 4.63 a1	41.62 ± 3.12 a1	46.13 ± 6.98 a1	41.28 ± 6.49 a1
Zn	11.53 ± 0.86 a2	8.41 ± 0.99 a1	12.02 ± 2.13 a2	9.96 ± 1.75 a1

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 5).

Sob irrigação (IR e IRPUT), fotossíntese (A), condutância estomática (gs), concentração intercelular de CO₂ (Ci) e transpiração (E) foram significativamente maiores que em WD e WDPUT. A aplicação de putrescina em déficit hídrico (WDPUT) elevou a eficiência de carboxilação (A/Ci) em comparação a WD, mas não afetou A, gs, Ci nem E. Já em IR, IRPUT e IR não se diferenciaram em nenhum parâmetro. A eficiência instantânea do uso de água (WUE) foi superior em WD e WDPUT em relação a IR e IRPUT (Tabela 5).

Tabela 5 – Fotossíntese (A), condutância estomática (gs), concentração intercelular de CO₂ (Ci), transpiração (E), eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci) e eficiência do uso da água (WUE) em plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

ECOPHYSIOLOGICAL ANALYZES				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
A	10.00 ± 3.23 a1	14.15 ± 2.55 a1	26.91 ± 3.12 a2	28.61 ± 3.85 a2
gs	0.05 ± 0.02 a1	0.07 ± 0.02 a1	0.19 ± 0.04 a2	0.21 ± 0.04 a2
Ci	81.50 ± 13.44 a1	73.29 ± 23.38 a1	135.29 ± 14.52 a2	138.02 ± 18.60 a2
E	0.80 ± 0.24 a1	1.10 ± 0.23 a1	2.41 ± 0.31 a2	2.54 ± 0.36 a2
A/Ci	0.12 ± 0.05 a1	0.20 ± 0.06 a2	0.20 ± 0.02 a2	0.20 ± 0.04 a2
WUE	12.44 ± 0.36 a2	12.82 ± 0.51 a2	11.18 ± 0.61 a1	11.28 ± 0.48 a1

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 7).

A massa quântica aparente (AQY), taxa fotossintética líquida máxima (A_{max}), taxa de respiração no escuro (Rd) e o ponto de compensação de luz (LCP) não variaram entre os tratamentos. Por outro lado, o ponto de saturação de luz (LSP) foram maiores em IR e IRPUT do que em WD e WDPUT. Sem efeitos significativos da putrescina dentro de cada condição hídrica (Tabela 6).

Tabela 6 – Rendimento quântico aparente (AQY), taxa fotossintética líquida máxima (A_{max}), taxa de respiração no escuro (R_e), ponto de compensação de luz (LCP) e ponto de saturação de luz (LSP) em plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

LIGHT CURVE				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
AQY	0.03 ± 0.02 a1	0.04 ± 0.00 a1	0.05 ± 0.00 a1	0.04 ± 0.00 a1
A_{max}	23.58 ± 6.80 a1	18.54 ± 3.89 a1	30.93 ± 3.78 a1	28.33 ± 1.41 a1
Rd	0.64 ± 0.09 a1	1.30 ± 0.19 a1	2.30 ± 0.01 a1	1.80 ± 0.17 a1
LCP	13.34 ± 2.01 a1	26.96 ± 4.10 a1	37.38 ± 0.34 a1	47.81 ± 3.55 a1
LSP	1381.6 ± 295.6 a1	1170.0 ± 216.5 a1	1880.0 ± 120.0 a2	1770.0 ± 60.0 a2

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 3).

Os parâmetros de fluorescência (F, Fm', Fo', Fo, Fm, Fv/Fm), bem como Y_{NO} e Y_{NPQ} , não se alteraram com irrigação ou putrescina. Em contrapartida, o rendimento efetivo de fotoreator (YII), a taxa de transporte de elétrons (ETR), o quenching fotquímico (qP) e o

quenching aberto (qL) aumentaram sob irrigação (IR e IRPUT) em relação a WD e WDPUT, sem efeito adicional da putrescina (Tabela 7).

Tabela 7 – Parâmetros de fluorescência da clorofila *a* em plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

<i>a</i> CHLOROPHYLL FLUORESCENCE				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
F	420.50 ± 68.12 a1	424.50 ± 92.13 a1	426.00 ± 36.12 a1	482.50 ± 72.47 a1
Fm'	447.00 ± 81.71 a1	451.50 ± 97.31 a1	498.00 ± 45.52 a1	548.50 ± 52.36 a1
PAR	353.50 ± 236.84 a1	183.66 ± 71.78 a1	321.40 ± 119.33 a1	174.50 ± 103.59 a1
Y(II)	0.05 ± 0.06 a1	0.06 ± 0.07 a1	0.14 ± 0.04 a2	0.12 ± 0.07 a2
ETR	6.58 ± 7.58 a1	4.00 ± 4.38 a1	19.40 ± 9.29 a2	9.68 ± 9.85 a1
Fo'	215.16 ± 56.87 a1	197.00 ± 25.35 a1	209.20 ± 39.18 a1	217.00 ± 50.32 a1
qP	0.10 ± 0.08 a1	0.10 ± 0.11 a1	0.24 ± 0.05 a2	0.22 ± 0.14 a2
qN	0.86 ± 0.04 a1	0.85 ± 0.05 a1	0.84 ± 0.02 a1	0.81 ± 0.03 a1
qL	0.05 ± 0.04 a1	0.04 ± 0.05 a1	0.12 ± 0.02 a2	0.12 ± 0.08 a2
NPQ	3625.33 ± 665.63 a1	3805.83 ± 1373.7 a1	3268.40 ± 431.21 a1	2903.66 ± 340.47 a1
Y _{NO}	0.20 ± 0.03 a1	0.20 ± 0.04 a1	0.20 ± 0.02 a1	0.22 ± 0.03 a1
Y _{NPQ}	0.73 ± 665.63 a2	0.73 ± 1373.70 a2	0.65 ± 431.21 a1	0.65 ± 340.47 a1
Fo	370.16 ± 141.83 a1	312.33 ± 57.23 a1	313.20 ± 78.29 a1	316.83 ± 98.08 a1
Fm	2024.16 ± 124.73 a1	2059.50 ± 40.01 a1	2106.40 ± 48.85 a1	2127.00 ± 59.64 a1
Fv/Fm	0.82 ± 0.07 a1	0.85 ± 0.03 a1	0.85 ± 0.04 a1	0.85 ± 0.05 a1

Legenda: *Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 5).

Do conjunto de variáveis de morfologia de raízes, apenas a área superficial foi maior em WDPUT versus WD e em IRPUT versus IR, indicando estímulo da putrescina à área de absorção. A razão raiz-folha (RF), a densidade de tecido de raiz (RMDe), o comprimento específico de raiz (SRL) e o diâmetro médio permaneceram inalterados. A relação RDW/SDW (razão de peso seco parte aérea/raiz) elevou-se com irrigação (IR e IRPUT) em comparação a WD e WDPUT (Tabela 8).

Tabela 8 – Morfologia de raízes em plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

ROOT MORPHOLOGY				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Length	30505.4 ±	34590.2 ±	30350.9 ±	42222.2 ±
	3692.7 a1	7822.6 a1	8182.7 a1	8258.6 a1
Surface area	3864.2 ±	5001.4 ±	3926.81 ±	6170.4 ±
	447.1 a1	1148.7 a2	718.30 a1	1236.3 a2
Diameter	3.31 ±	3.02 ±	2.10 ±	3.66 ±
	0.41 a1	0.97 a1	0.89 a1	0.59 a1
Volume	39.22 ±	58.06 ±	46.80 ±	72.34 ±
	5.75 a1	13.50 a2	6.95 a1	15.29 a2
RF	7.90 ±	6.85 ±	6.92 ±	6.85 ±
	0.52 a1	1.63 a1	0.20 a1	0.23 a1
RMDe	0.23 ±	0.20 ±	0.24 ±	0.17 ±
	0.02 a1	0.02 a1	0.09 a1	0.02 a1
SRL	3352.21 ±	2975.41 ±	2733.35 ±	3439.3 ±
	414.21 a1	1123.50 a1	791.19 a1	273.7 a1
RDW/SDW	2.11 ±	2.20 ±	3.42 ±	3.82 ±
	0.28 a1	0.21 a1	0.07 a2	0.44 a2

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 5).

A irrigação (IR e IRPUT) aumentou o comprimento das raízes muito finas (< 0,5 mm), finas (0,5–2,0 mm) e grossas (> 2,0 mm) em relação a WD e WDPUT, sem diferença entre os níveis com e sem putrescina em cada condição hídrica (Tabela 9). A área superficial das raízes finas (> 0,5–2,0 mm) e grossas (> 2,0 mm) foi maior sob irrigação (IR e IRPUT) do que em WD e WDPUT. Nas raízes muito finas (< 0,5 mm) não houve diferença entre tratamentos. A putrescina não alterou a área dentro de cada condição hídrica (Tabela 10). O volume das raízes finas (> 0,5–2,0 mm) e grossas (> 2,0 mm) foi significativamente maior em IR e IRPUT versus WD e WDPUT, enquanto o volume das raízes muito finas (< 0,5 mm) permaneceu estável. Além disso, a aplicação de putrescina em déficit (WDPUT) elevou o volume de raízes grossas em comparação a WD (Tabela 11).

Tabela 9 – Comprimento das raízes muito finas (<0,5 mm), finas (>0,5 <2,0 mm) e grossas (>2,0 mm) nas plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

ROOT MORPHOLOGY (LENGTH)				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Very Thin (< 0,5 mm)	24613.31 ± 3312.84 a1	21748.02 ± 9268.31 a1	27085.70 ± 6352.06 a1	32932.47 ± 6432.09 a1
Thin (> 0,5 < 2.0 mm)	5579.85 ± 489.85 a1	5338.26 ± 1248.05 a1	6708.77 ± 1346.23 a1	8273.52 ± 1624.57 a2
Thick (> 2.0 mm)	297.99 ± 130.02 a1	498.70 ± 240.67 a1	777.00 ± 177.67 a2	993.37 ± 281.20 a2

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 5).

Tabela 10 – Área superficial das raízes muito finas (<0,5 mm), finas (>0,5 <2,0 mm) e grossas (>2,0 mm) nas plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

ROOT MORPHOLOGY (SURFACE AREA)				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Very Thin (< 0,5 mm)	1607.75 ± 199.11 a1	1417.63 ± 586.32 a1	1779.77 ± 450.87 a1	2125.57 ± 384.36 a1
Thin (> 0,5 < 2.0 mm)	1527.02 ± 156.54 a1	1506.21 ± 305.26 a1	1961.76 ± 384.54 a2	2401.89 ± 448.24 a2
Thick (> 2.0 mm)	261.97 ± 123.97 a1	492.11 ± 293.62 a1	712.32 ± 177.29 a2	927.37 ± 287.32 a2

Legenda: *Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 5).

Tabela 11 – Volume das raízes muito finas (<0,5 mm), finas (>0,5 <2,0 mm) e grossas (>2,0 mm) nas plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

ROOT MORPHOLOGY (VOLUME)				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Very Thin (< 0,5 mm)	10.56 ± 1.25 a1	9.29 ± 3.70 a1	11.82 ± 3.14 a1	13.97 ± 2.40 a1
Thin (> 0,5 < 2.0 mm)	38.20 ± 4.79 a1	39.00 ± 6.63 a1	53.54 ± 10.41 a2	64.92 ± 11.30 a2
Thick (> 2.0 mm)	20.19 ± 10.90 a1	45.81 ± 34.61 a2	57.61 ± 16.00 a2	77.39 ± 27.24 a2

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 5).

Considerando a condição de irrigação, os tratamentos irrigados (IR e IRPUT) mostraram respostas superiores aos tratamentos em déficit (WD e WDPUT) para vários parâmetros. Em particular, diâmetro, número de fileiras, massa da espiga e massa de grãos foram significativamente maiores em IR e IRPUT do que em WD e WDPUT (os irrigados pertencem ao mesmo grupo de significância). Os tratamentos em déficit (WD e WDPUT) apresentaram, em geral, as menores médias para esses parâmetros. Já o comprimento e o número de grãos por fileira não aumentaram com a simples irrigação (IR); apenas IRPUT apresentou comprimento e número de grãos por fileira significativamente maiores. Por fim, a massa de cem grãos não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos.

Quanto ao efeito do bioestimulante (putrescina), os dados indicam que a putrescina foi benéfica apenas quando aplicada sob irrigação: IRPUT foi a única condição que aumentou significativamente o comprimento da espiga e o número de grãos por fileira em relação a IR. Em relação ao diâmetro, massa da espiga e massa de grãos, IR e IRPUT são estatisticamente superiores a WD e WDPUT, porém não há diferença significativa entre IR e IRPUT nesses parâmetros (embora IRPUT apresente as maiores médias numéricas). Na condição de déficit hídrico, WDPUT não diferiu de WD, ou seja, a putrescina não compensou os efeitos negativos do déficit. A massa de cem grãos também não foi influenciada pela aplicação de putrescina.

Tabela 12 – Características produtivas das plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

	PRODUCTIVITY			
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Corn ear Length	117.61 ± 11.57 a1	114.01 ± 10.36 a1	124.68 ± 2.74 a1	139.93 ± 4.90 a2
Corn ear Diameter	32.76 ± 3.39 a1	31.04 ± 3.40 a1	40.38 ± 2.25 a2	40.14 ± 1.55 a2
Number of rows	10.83 ± 2.70 a1	10.62 ± 1.95 a1	14.80 ± 1.69 a2	14.40 ± 1.02 a2
Grains per row	17.55 ± 4.04 a1	16.09 ± 5.05 a1	20.40 ± 2.91 a1	26.20 ± 1.44 a2
Corn Ear mass	59.77 ± 19.62 a1	46.77 ± 19.16 a1	84.30 ± 13.58 a2	100.00 ± 3.82 a2
Grain mass	41.50 ± 14.98 a1	31.47 ± 14.59 a1	60.79 ± 11.00 a2	72.43 ± 2.83 a2
Hundred grain mass	25.93 ± 5.57 a1	23.41 ± 5.79 a1	19.99 ± 4.03 a1	20.90 ± 0.93 a1

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 5).

A concentração de açúcares totais nas folhas e raízes de plantas de milho desfolhadas, apesar de apresentar médias ligeiramente maiores em condição de déficit hídrico (WD), não tiveram diferenças significativas entre os tratamentos de irrigação (Tabela 13).

Quando a putrescina foi aplicada nas plantas desfolhadas, também não se obteve diferenças significativas entre as médias entre déficit hídrico (WD) e déficit hídrico com putrescina (WDPUT). Quanto ao tratamento de plantas irrigadas (IR), as médias foram menores que as plantas com putrescina (IRPUT), entretanto, a diferença não foi considerada significativamente de acordo com o teste estatístico (Tabela 13).

Tabela 13 – Concentração de açúcares solúveis totais nas folhas e raízes das plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

	TOTAL SOLUBLE SUGARS			
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Leaves	150.57 ± 63.03 a1	116.43 ± 43.77 a1	90.80 ± 35.09 a1	128.61 ± 56.04 a1
Roots	36.60 ± 9.20 a1	35.65 ± 11.62 a1	19.53 ± 9.18 a1	30.14 ± 13.02 a1

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 5).

Considerando a condição de irrigação, os dados mostram que, em média, as plantas irrigadas apresentaram maior concentração de amido nas folhas ($41,39 \pm 0,18 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) em comparação aos tratamentos em déficit (WD = $23,95 \pm 0,10$; WDPUT = $22,43 \pm 0,08$) e a IRPUT ($30,13 \pm 0,07$). Nas raízes, as médias variaram entre ≈ 11 – 61 (IR = $11,29 \pm 0,05$; IRPUT = $14,07 \pm 0,07$; WD = $14,18 \pm 0,04$; WDPUT = $60,90 \pm 0,65$). No entanto, segundo a legenda (teste Scott-Knott, 5%) todas as médias na mesma linha apresentam a mesma letra (“a1”), ou seja, não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos para a concentração de amido nas folhas nem nas raízes.

Quanto ao efeito do bioestimulante (putrescina), numericamente a putrescina não elevou consistentemente o amido foliar (WDPUT = $22,43 < \text{WD} = 23,95$; IRPUT = $30,13 < \text{IR} = 41,39$) e mostrou um aumento numérico muito grande nas raízes em WDPUT ($60,90$) em relação a WD ($14,18$). Ainda assim, esses contrastes numéricos não se traduziram em diferenças estatísticas. Portanto, com base na tabela apresentada, a aplicação de putrescina não provocou alterações estatisticamente significativas na concentração de amido em folhas ou raízes nas condições testadas. (Tabela 14).

Tabela 14 – Concentração de amido nas folhas e raízes das plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

	STARCH			
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Leaves	23.95 ± 0.10 a1	22.43 ± 0.08 a1	41.39 ± 0.18 a1	30.13 ± 0.07 a1
Roots	14.18 ± 0.04 a1	60.90 ± 0.65 a1	11.29 ± 0.05 a1	14.07 ± 0.07 a1

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento \pm erro padrão da média (n = 5).

Considerando a condição de irrigação, os tratamentos não diferiram na concentração de aminoácidos nas folhas (todas as médias com “a1”: WD = $2,46 \pm 0,96$; WDPUT = $2,35 \pm 0,91$; IR = $1,83 \pm 0,51$; IRPUT = $1,75 \pm 1,08$), ou seja, não houve efeito estatisticamente significativo da irrigação sobre os aminoácidos foliares (teste Scott-Knott, 5%). Nas raízes, entretanto, o tratamento em déficit hídrico sem putrescina (WD = $1,42 \pm 0,47$, letra “a2”) apresentou concentração significativamente maior de aminoácidos do que os demais tratamentos (WDPUT = $0,94 \pm 0,23$; IR = $1,00 \pm 0,14$; IRPUT = $0,59 \pm 0,09$; todos “a1”), indicando que o déficit hídrico aumentou os aminoácidos radiculares quando comparado aos outros tratamentos.

Quanto ao efeito do bioestimulante (putrescina), não houve diferença estatística nas folhas entre tratamentos com e sem putrescina (WD vs WDPUT; IR vs IRPUT — todos “a1”), ou seja, a putrescina não alterou significativamente os aminoácidos foliares. Nas raízes, a aplicação de putrescina sob déficit (WDPUT = $0,94 \pm 0,23$, “a1”) reduziu numericamente — e estatisticamente em relação a WD — a concentração de aminoácidos, aproximando-a dos valores observados em tratamentos irrigados; sob irrigação a putrescina (IRPUT) não diferiu de IR (Tabela 15).

Tabela 15 – Concentração de aminoácidos nas folhas e raízes das plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

AMINO ACIDS				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Leaves	2.46 ± 0.96 a1	2.35 ± 0.91 a1	1.83 ± 0.51 a1	1.75 ± 1.08 a1
Roots	1.42 ± 0.47 a2	0.94 ± 0.23 a1	1.00 ± 0.14 a1	0.59 ± 0.09 a1

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento \pm erro padrão da média (n = 5).

Considerando a condição de irrigação, os tratamentos não diferiram na concentração de proteínas nas folhas, ou seja, não houve efeito estatisticamente significativo da irrigação sobre as proteínas foliares. Nas raízes, também não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, indicando que o déficit hídrico não alterou a concentração de proteínas radiculares (Tabela 16).

Quanto ao efeito da putrescina, não houve diferença estatística entre tratamentos com e sem putrescina, tanto nas folhas quanto nas raízes, ou seja, a aplicação de putrescina não modificou significativamente a concentração de proteínas nas plantas (Tabela 16).

Tabela 16 – Concentração de proteínas em miligramas nas folhas e raízes das plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

PROTEINS				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Leaves	2.52 ± 0.15 a1	2.35 ± 0.24 a1	2.41 ± 0.11 a1	2.48 ± 0.43 a1
Roots	2.50 ± 0.30 a1	2.43 ± 0.20 a1	2.41 ± 0.56 a1	2.41 ± 0.34 a1

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento \pm erro padrão da média (n = 5).

A atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) nas folhas das plantas de milho desfolhadas apresentou diferença significativa entre os tratamentos. O tratamento de Déficit Hídrico (WD) resultou na maior atividade da enzima ($2,40 \pm 1,04$ U/mg), sendo estatisticamente superior aos demais tratamentos (WDPUT, IR e IRPUT), que não diferiram entre si (Tabela 17).

Nas raízes, a atividade da enzima APX não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. As médias variaram de $0,58 \pm 0,21$ (WD) a $0,83 \pm 0,19$ (IRPUT), e todos os tratamentos foram agrupados no mesmo grupo estatístico (Tabela 17).

Tabela 17 – Número de micromols de ascorbato consumido por miligrama de proteína por minuto (U/mg) nas folhas e raízes das plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

	APX ENZYME			
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Leaves	2.40 ± 1.04 a2	0.98 ± 0.73 a1	0.89 ± 0.38 a1	1.52 ± 1.05 a1
Roots	0.58 ± 0.21 a1	0.73 ± 0.33 a1	0.60 ± 0.28 a1	0.83 ± 0.19 a1

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento \pm erro padrão da média (n = 3).

A atividade da enzima glutathiona peroxidase (GPOX) nas folhas das plantas de milho desfolhadas apresentou diferença significativa entre os tratamentos. O tratamento de Déficit Hídrico (WD) foi estatisticamente diferente dos demais tratamentos, sendo a maior média no agrupamento estatístico. Os tratamentos WDPUT ($2696,80 \pm 6021,91$ U/mg), IR ($2939,04 \pm 5082,14$ U/mg) e IRPUT ($5838,99 \pm 7825,39$ U/mg) não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 18).

Nas raízes, a atividade da enzima GPOX não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos de irrigação e aplicação de putrescina. As médias variaram de $1359,91 \pm 3032,23$ (IRPUT) a $2693,71 \pm 4658,63$ (IR), e todos os tratamentos foram agrupados no mesmo grupo estatístico (Tabela 18).

Tabela 18 – Número de micromols de peróxido consumido por miligrama de proteína por minuto (U/mg) nas folhas e raízes das plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

GPOX ENZYME				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Leaves	5408.81 ± 5734.12 a2	2696.80 ± 6021.91 a1	2939.04 ± 5082.14 a1	5838.99 ± 7825.39 a1
Roots	2183.75 ± 2986.11 a1	1799.15 ± 4017.09 a1	2693.71 ± 4658.63 a1	1359.91 ± 3032.23 a1

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 5).

A atividade da enzima catalase (CAT) nas folhas das plantas de milho desfolhadas não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. O tratamento Irrigado (IR) (281,62 ± 252,33 U/mg), o Déficit Hídrico (WD) (61,86 ± 35,64 U/mg), Déficit Hídrico com Putrescina (WDPUT) (99,37 ± 75,34 U/mg) e o Irrigado com Putrescina (IRPUT) (128,15 ± 35,62 U/mg) não diferiram estatisticamente entre si, sendo agrupados no grupo a1.

Nas raízes, a atividade da enzima CAT também não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos de irrigação (WD, WDPUT, IR e IRPUT). As médias variaram de 33,70 ± 42,55 (WD) a 44,21 ± 36,19 (IRPUT), e todos os tratamentos foram agrupados no mesmo grupo estatístico (Tabela 19).

Tabela 19 – Milimols de H₂O₂ (peróxido de hidrogênio) consumido por mg de proteína por min (U/mg) nas folhas e raízes das plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

CAT ENZYME				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Leaves	61.86 ± 35.64 a1	99.37 ± 75.34 a1	281.62 ± 252,33 a1	128.15 ± 35,62 a1
Roots	33.70 ± 42.55 a1	37.47 ± 21.53 a1	42.66 ± 5.74 a1	44.21 ± 36.19 a1

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento ± erro padrão da média (n = 5).

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) nas folhas das plantas de milho desfolhadas apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Os tratamentos Déficit Hídrico (WD) (635,56 ± 69,84 U/mg), Déficit Hídrico com Putrescina (WDPUT) (650,20 ± 159,72 U/mg) e Irrigado com Putrescina (IRPUT) (654,27 ± 151,96 U/mg) foram estatisticamente semelhantes com maiores médias (a2). O tratamento Irrigado (IR) (301,15 ±

52,97 U/mg) apresentou a menor atividade da enzima, sendo estatisticamente diferente dos demais (Tabela 20).

Nas raízes, a atividade da SOD também apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Os tratamentos Déficit Hídrico (WD) ($621,94 \pm 81,69$ U/mg), Déficit Hídrico com Putrescina (WDPUT) ($593,26 \pm 107,26$ U/mg) e irrigado (IR) ($528,95 \pm 168,41$ U/mg) foram estatisticamente semelhantes com maiores médias (a2). O tratamento Irrigado com Putrescina (IRPUT) ($345,96 \pm 92,11$ U/mg) apresentou a menor atividade da enzima, sendo estatisticamente diferente dos demais (Tabela 20).

Tabela 20 – Unidades de superóxido dismutase por miligrama de proteína (U/mg) nas folhas e raízes das plantas de milho desfolhadas nos tratamentos déficit hídrico (WD), déficit hídrico com putrescina (WDPUT), irrigado (IR) e irrigado com putrescina (IRPUT).

SOD ENZYME				
	WD	WDPUT	IR	IRPUT
Leaves	635.56 ± 69.84 a2	650.20 ± 159.72 a2	301.15 ± 52.97 a1	654.27 ± 151.96 a2
Roots	621.94 ± 81.69 a2	593.26 ± 107.26 a2	528.95 ± 168.41 a2	345.96 ± 92.11 a1

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na mesma linha, para cada variável não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Cada valor indica a média do tratamento \pm erro padrão da média (n = 5).

4. DISCUSSÃO

Os resultados de biometria e de massa seca (Tabela 2 e Tabela 3) mostraram diferenças significativas nos tratamentos sob diferentes condições hídricas, evidenciando o impacto do manejo da irrigação e do déficit hídrico no crescimento das plantas de milho desfolhadas. O déficit hídrico reduziu significativamente o crescimento das plantas desfolhadas, conforme evidenciado na diminuição de 53,7% na altura e 58,4% no diâmetro do colmo em comparação ao controle irrigado (IR). Esse impacto negativo ressalta a importância da disponibilidade hídrica para o desenvolvimento vegetal, uma vez que a irrigação adequada favorece processos fisiológicos essenciais, como a fotossíntese, a produção de matéria orgânica, o transporte de nutrientes e a alongação celular (MARQUES et al., 2023). Durante o estresse hídrico, a concentração do hormônio ABA aumenta, desencadeando uma cascata de sinalização interna que reduz o potencial osmótico das células-guarda por meio da perda de íons K^+ e Cl^- , resultando no fechamento dos estômatos para evitar perda de água, mas impactando as trocas gasosas e conseqüentemente a fotossíntese (SHEORAN et al., 2022).

Além do déficit hídrico, a desfolha também afeta diretamente a estrutura e o crescimento das plantas, pois a remoção das folhas reduz a disponibilidade de fotoassimilados para as raízes e outros órgãos. A perda total da área foliar compromete o crescimento vegetativo, diminuindo altura, diâmetro e biomassa radicular até que novas folhas sejam formadas e a planta retome seu desenvolvimento (FERREIRA et al., 2024). As plantas submetidas à desfolha, apresentam uma redução nos açúcares redutores, aminoácidos e proteínas, comprometendo seu desenvolvimento. Para compensar a perda de folhas, as plantas mobilizam assimilados das raízes para a parte aérea, evidenciado pela redistribuição de biomoléculas e pelo menor crescimento radicular (QUENTIN et al., 2011; LIU et al., 2007). Esse mecanismo exige um alto consumo energético para a regeneração das folhas, essenciais para a produção de novos fotoassimilados.

A putrecina quando aplicada de forma exógena ou por meio de priming de sementes, apresenta vários efeitos benéficos em diversos tipos de plantas, auxiliando em seu crescimento e na resposta a diversos fatores de estresse para a proteção e sobrevivência (GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ et al., 2022; BAZVAND et al., 2024). As plantas quando submetidas a estresses bióticos ou abióticos, produzem a putrecina de forma intracelular naturalmente para estimular seus sistemas antioxidantes (ZHAO et al., 2021). Nos resultados aqui obtidos percebe-se que a putrecina não causou grande impacto na morfofisiologia das

plantas, isso pode dar pela intensidade dos estresses aqui submetidos e ou pela concentração da putrescina aplicada.

Calcio (Ca), magnésio (Mg), boro (B) e manganês (Mn) foram menores nos tratamentos sob déficit hídrico (Tabela 4). Isso reforça a condição de baixa absorção das raízes devido ao déficit hídrico que comprometeu seu crescimento concomitante com a desfolha, fazendo com que a planta mobilize recursos das raízes para a parte aérea. O aumento da concentração de fósforo (P) em plantas de milho desfolhadas e sob déficit hídrico pode ser consequência da ativação de respostas fisiológicas ao estresse. Esses fatores refletem uma adaptação da planta para lidar com a escassez de água, garantindo a manutenção de processos vitais e aumentando sua capacidade de tolerância à seca. O fósforo também desempenha um papel essencial na sinalização celular e na ativação de mecanismos de defesa contra estresses ambientais (SILVA et al., 2020). O aumento na sua concentração pode estar relacionado à necessidade de manter a homeostase energética e ativar vias bioquímicas adaptativas, como a produção de compostos osmoprotetores e antioxidantes (NUNES et al., 2019).

Já a aplicação da putrescina na condição de déficit hídrico (WDPUT) exibiu efeito de diminuição de Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Calcio (Ca), Magnésio (Mg), Enxofre (S), Ferro (Fe) e Zinco (Zn) quando comparados ao tratamento de déficit sem aplicação de putrescina (WD). Esse resultado vai contra o relato de Cui, et al. (2020) e Hassan; Bano (2016) que demonstram que a putrescina aumenta a quantidade de nutrientes (exceto o sódio) a fim de se regular o equilíbrio catiônico. Ao que tudo indica, a baixa concentração de nutrientes nas plantas de milho tratadas com putrescina 50 μ M foi causada pelo impacto do bioestimulante na absorção desses nutrientes e conseqüentemente, no bioacúmulo de cada nutriente por massa seca da planta. Estudos com diferentes concentrações e tipos de aplicação de putrescina são essenciais para compreender melhor seu efeito no acúmulo de nutrientes em milho submetido a desfolha e déficit hídrico.

O déficit hídrico ocorrendo simultaneamente com a desfolha afetou negativamente a fisiologia do milho, resultando na redução dos níveis de clorofila, da taxa fotossintética (A), condutância estomática (gs), concentração intercelular de CO₂ (Ci), transpiração (E) e eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci). Como consequência, as plantas submetidas a essa condição apresentaram menor turgor celular e redução do potencial hídrico (Reis et al., 2018), o que comprometeu seu crescimento e desenvolvimento (ASLAM et al., 2022). O déficit hídrico pode desencadear estresses secundários, como o estresse oxidativo, promovendo a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), o que contribui para a ocorrência de clorose e murcha, intensificando os danos causados pela limitação

hídrica (MARQUES et al., 2023; NOTONUNU et al., 2022). Esses impactos negativos restringem o desempenho fisiológico das plantas, reduzindo a taxa fotossintética, acelerando a degradação da clorofila e prejudicando o crescimento, a expansão foliar e o acúmulo de biomassa.

Juntamente a isso, a área foliar desempenha um papel fundamental nos processos fisiológicos essenciais das plantas, incluindo as trocas gasosas e a respiração (MONDO et al., 2009). De acordo com o estudo de Pinkard, Eyles e O'Grady (2011), há evidências de que as trocas gasosas em *Eucalyptus globulus* são influenciadas por baixos níveis de água e nitrogênio, bem como pela desfolha, estando associadas às alterações nas relações entre fonte e dreno. Segundo Ferreira et al. (2024) a desfolha precoce no milho não impacta agressivamente nas trocas gasosas ao serem analisadas aos 7 e 14 dias após a desfolha. Pelo contrário, as plantas desfolhadas apresentaram maior g_s , C_i e E , afetando apenas a eficiência no uso da água e a eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i).

A redução do crescimento radicular do milho observada neste estudo pode ser atribuída à diminuição na disponibilidade de fotoassimilados e à limitação hídrica, ambos fatores determinantes para o desenvolvimento estrutural da planta. A desfolha compromete a capacidade fotossintética ao remover as folhas, principais órgãos responsáveis pela produção de açúcares e outros metabólitos essenciais. Com a menor produção de fotoassimilados, ocorre uma redistribuição desses compostos para a regeneração da parte aérea, em detrimento do crescimento radicular (FERREIRA et al., 2024). Esse processo evidencia um mecanismo de compensação no qual a planta prioriza a recomposição da superfície foliar para restabelecer a fotossíntese, resultando na redução do diâmetro, biomassa e comprimento das raízes (QUENTIN et al., 2011; LIU et al., 2007). Dessa forma o déficit hídrico parece ter impactado mais ainda os parâmetros morfológicos.

Além disso, o déficit hídrico intensifica os impactos negativos sobre o crescimento radicular ao limitar a absorção de água e nutrientes nas plantas de milho com desfolhas. A redução na disponibilidade hídrica provoca fechamento estomático e, conseqüentemente, uma diminuição na fixação de CO_2 , reduzindo a taxa fotossintética e afetando diretamente a produção de carboidratos essenciais para o desenvolvimento das raízes (MARQUES et al., 2023). Esse processo resulta em menor expansão e alongamento celular, refletindo na redução da biomassa radicular. A limitação hídrica também desencadeia modificações fisiológicas severas, como o aumento no tamanho das células meristemáticas das raízes, além da desintegração de membranas e organelas celulares, impactando negativamente a capacidade de crescimento e absorção da planta (RASOOL et al., 2019).

Em condições ideais, um sistema radicular composto por raízes muito finas e bem desenvolvidas permite a exploração de camadas profundas do solo para captar água e nutrientes, conferindo vantagem adaptativa em situações de estresse hídrico (SOUZA et al., 2016). Contudo, o déficit hídrico combinado com a desfolha impactou negativamente o crescimento dessas raízes delicadas, prejudicando a absorção de água e nutrientes, especialmente nas plantas desfolhadas que passaram por seca. A redução na densidade radicular decorrente do estresse limita o transporte de seiva e, conseqüentemente, o desenvolvimento da parte aérea (GUO et al., 2023). Enquanto as raízes grossas são essenciais para a sustentação da planta, o transporte de solutos e a expansão do sistema radicular, contribuindo para a fixação e o crescimento em profundidade (RIBEIRO et al., 2024).

Por fim, a combinação da desfolha com o déficit hídrico levou a uma redução expressiva no crescimento tanto da parte aérea quanto do sistema radicular, comprometendo a biomassa total da planta. A limitação hídrica restringiu o desenvolvimento de raízes finas ilustrando a menor relação de peso seco parte aérea/raíz (Tabela 8). Isso indica que, sob condições adversas, a planta enfrenta dificuldades na redistribuição de recursos para manter seu crescimento estrutural. A menor massa seca total reforça o impacto negativo do estresse combinado sobre o milho, destacando a importância de estratégias fisiológicas, como o uso de bioestimulantes, para minimizar os danos causados pela desfolha e déficit hídrico. A putrescina demonstrou ser um fator positivo para o crescimento radicular ao atuar no aumento do comprimento, volume e área superficial principalmente das raízes finas e grossas. As raízes grossas contêm uma quantidade mais significativa de tecido lignificado e não apresentam tricomas nem pelos radiculares. Dessa forma, o desenvolvimento dessas estruturas não está diretamente associado à eficiência na captação de água e nutrientes.

A putrescina exerce diversas funções nas plantas, incluindo a neutralização de espécies reativas de oxigênio, a regulação do equilíbrio osmótico e a promoção da divisão celular (TOLEDO et al., 2024), o que favorece o alongamento do caule. No entanto, a variação nos efeitos observados entre diferentes concentrações pode ser influenciada por fatores como a espécie avaliada, as condições experimentais e a severidade do déficit hídrico. Estudos anteriores indicam que a putrescina pode estimular o crescimento vegetal em situações de estresse hídrico. Hussein et al. (2023) relataram efeitos positivos no desenvolvimento de plantas de trigo sob déficit hídrico quando tratadas com 1 mM de putrescina. Este bioestimulante pode apresentar benefícios em diferentes concentrações, sugerindo assim que a putrescina pode atuar em uma ampla faixa de dosagens (DONEVA et al., 2021). No presente estudo, verificou-se que a concentração de 50 μ M de putrescina modificou a concentração de

nutrientes, a eficiência instantânea de carboxilação, a taxa de transporte de elétrons e a morfologia de raízes grossas, sendo o efeito positivo observado apenas na eficiência instantânea de carboxilação.

A aplicação do bioestimulante impactou negativamente na taxa de transporte de elétrons (ETR) no tratamento irrigado (IR). A putrescina, como poliamina, tem um papel importante na modulação de vários processos fisiológicos em plantas, incluindo a fotossíntese e a taxa de transporte de elétrons (GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, 2022). A ETR é uma medida da eficiência com que os elétrons são transferidos através da cadeia de transporte de elétrons no fotossistema II durante a fotossíntese, um processo essencial para a geração de energia na planta. A diminuição de ETR nos tratamentos com putrescina reflete em uma menor eficiência na cadeia de transporte de elétrons, o que indica um mecanismo de resposta ao estresse (MOHAMMADI-CHERAGHABADI et al., 2022). Neste cenário, a planta pode estar diminuindo ETR a fim de evitar excesso de elétrons no fotossistema II e assim, evitar a formação de EROs. Reduzir a produção de EROs, preserva a função do fotossistema II e melhora a eficiência do transporte de elétrons (MOHAMMADI et al., 2018). Além disso, em alguns casos, a putrescina tem sido associada ao aumento da fluidez das membranas celulares, o que também pode contribuir para uma melhor eficiência na transferência de elétrons durante a fotossíntese. Assim, a putrescina pode atuar como um regulador da ETR, melhorando a eficiência fotossintética ou diminuindo sua taxa para a adaptação das plantas a condições ambientais adversas, como estresse hídrico ou oxidativo.

Ao avaliar a concentração de metabólitos primários, percebe-se que os tratamentos de condição hídrica, aplicação de putrescina e de desfolha não apresentaram efeitos significativos na concentração de açúcares totais, amido e proteínas. O teor de aminoácidos foi maior na condição de déficit hídrico, que condiz com OBATA et al. (2015), onde 20 dos 41 aminoácidos analisados tiveram acúmulo em condição de estresse hídrico como isoleucina, valina, treonina, glicina e serina e principalmente o acúmulo de prolina. Entretanto, no presente estudo os aminoácidos foram acumulados em maior quantidade nas raízes do milho. Esse acúmulo sugere investimento da planta no potencial de crescimento radicular para a busca de água em meio ao déficit hídrico, concomitantemente o acúmulo desses aminoácidos também auxilia na proteção das membranas (mantendo sua fluidez) e na manutenção do potencial hídrico celular e regulação do potencial osmótico.

A desfolha em estádios iniciais (V4) não afeta bruscamente a concentração de amido, proteínas, açúcares totais e redutores. Porém, em estágio V7 as plantas não desfolhadas possuem maior concentração dessas biomoléculas e também de aminoácidos do que plantas

desfolhadas (FERREIRA et al., 2024). A concentração de biomoléculas obtidas neste estudo pode indicar que a combinação dos estresses hídrico e desfolha afetaram severamente os parâmetros bioquímicos das plantas, pois não apresentaram acúmulos significativos mesmo após o estágio V7. Nesse estágio a planta está focada na recuperação de área foliar para produção de fotoassimilados, entretanto, o déficit hídrico interferiu na síntese de biomoléculas com exceção dos aminoácidos que foram sintetizados em maiores quantidades a fim de proteger a planta dos estresses e perda de água. O tratamento com 1mM de putrescina no *Triticum aestivum* L., uma *Poaceae* semelhante ao milho, apresentou melhorias evidentes no acúmulo de aminoácidos, açúcares, compostos fenólicos e na produtividade em um cenário de déficit hídrico (HUSSEIN et al., 2023). No presente estudo a aplicação da putrescina de forma exógena a 50 μ M não apresentou os resultados desejados conforme a literatura consultada, sendo que não interferiu o suficiente na resposta metabólica de forma que aumentasse a síntese de biomoléculas a fim de proteger as plantas dos estresses submetidos.

A resposta de plantas de milho (*Zea mays* L.) ao déficit hídrico e à aplicação exógena de putrescina à 50 μ M envolve complexas alterações bioquímicas, notadamente no metabolismo de solutos osmóticos e no sistema de defesa antioxidante. Os resultados obtidos nas Tabelas 17, 18, 19 e 20 fornecem insights sobre a modulação desses mecanismos em folhas e raízes.

O sistema de defesa antioxidante, composto por enzimas como a Superóxido Dismutase (SOD), Ascorbato Peroxidase (APX) e Peroxidase (GPOX), é fundamental para a eliminação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) produzidas em excesso sob estresse (ZHAO et al., 2021).

A atividade da enzima APX (Tabela 17) nas folhas foi significativamente maior no tratamento WD (grupo a2) em comparação com os demais (WDPUT, IR e IRPUT, grupo a1). Este aumento na atividade da APX sob déficit hídrico é uma resposta típica de defesa, visando a detoxificação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) no ciclo ascorbato-glutationa. O fato de a aplicação de putrescina sob déficit hídrico (WDPUT) ter reduzido a atividade da APX para o nível do controle (IR) sugere que a putrescina pode ter mitigado o estresse oxidativo, diminuindo a necessidade de uma alta atividade enzimática. Nas raízes, a APX não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, indicando uma resposta menos pronunciada ou mais estável neste órgão.

A atividade da enzima GPOX (Tabela 18) nas folhas também foi significativamente maior no tratamento WD (grupo a2) em relação aos demais (grupo a1). A GPOX, assim como a APX, atua na eliminação de H_2O_2 . O aumento em WD e a redução nos tratamentos com

putrescina (WDPUT e IRPUT) reforçam a hipótese de que a putrescina exógena atua como um agente protetor, reduzindo o acúmulo de EROs e, conseqüentemente, a indução das enzimas antioxidantes (AHANGIR et al., 2020). Nas raízes, a GPOX não apresentou diferença significativa, similar ao observado para a APX.

A enzima CAT (Tabela 19) nas folhas apresentou a maior atividade no tratamento IR (grupo a1), juntamente com WDPUT e IRPUT, sendo o tratamento WD estatisticamente diferente (grupo a2). A CAT é responsável pela decomposição direta de H_2O_2 em água e oxigênio. A menor atividade em WD pode indicar uma inativação da enzima sob estresse mais severo ou uma preferência pela via APX/GPOX para a eliminação de H_2O_2 (HENDGES et al., 2015). Nas raízes, a CAT não apresentou diferença significativa.

A SOD (Tabela 20) é a primeira linha de defesa, convertendo o ânion superóxido (O_2^-) em H_2O_2 . Nas folhas, os tratamentos sob estresse (WD, WDPUT e IRPUT) apresentaram maior atividade (grupo a2) do que o tratamento IR (grupo a1). Este resultado indica que o estresse hídrico, mesmo mitigado pela putrescina, induziu a produção de O_2^- , ativando a SOD. Nas raízes, a atividade da SOD foi maior nos tratamentos WD, WDPUT e IR (grupo a2), sendo significativamente menor em IRPUT (grupo a1). A redução da SOD em IRPUT nas raízes pode sugerir que a putrescina, em condições de irrigação, pode ter um efeito regulatório mais eficiente, mantendo o estresse oxidativo em níveis mais baixos (TOLEDO et al., 2024).

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que o déficit hídrico imposto às plantas de milho desfolhadas induziu um quadro de estresse que afetou negativamente a fisiologia, o acúmulo de nutrientes e, conseqüentemente, a produtividade. O estresse foi caracterizado pela redução drástica das trocas gasosas (Fotossíntese, Condutância Estomática e Transpiração) pela limitação do transporte de elétrons (ETR) e pelo aumento da dissipação de energia não fotoquímica (Y_{NPQ}), além de um aumento na atividade das enzimas antioxidantes (APX, GPOX e SOD) nas folhas, como mecanismo de defesa contra o estresse oxidativo.

A aplicação exógena de putrescina modulou a resposta da planta de forma complexa, com efeitos mais notáveis em condições de irrigação e na mitigação do estresse oxidativo sem induzir efeitos deletérios.

Na mitigação do estresse oxidativo a putrescina, quando aplicada sob déficit hídrico (WDPUT), reduziu a atividade das enzimas APX e GPOX nas folhas para níveis semelhantes aos das plantas irrigadas, sugerindo que a poliamina atuou na eliminação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) ou na estabilização celular, diminuindo a necessidade de uma alta indução enzimática.

O efeito promotor de crescimento radicular a putrescina em condições de irrigação (IRPUT) promoveu um aumento significativo no comprimento e volume total das raízes (principalmente nas raízes finas e grossas), bem como na alocação de biomassa para o sistema radicular (RDW/SDW), indicando um papel como bioestimulante do crescimento radicular, o que é crucial para a tolerância à seca.

Na produtividade, um maior comprimento de espiga e grãos por fileira foi observado no tratamento IRPUT, sugerindo que a poliamina pode otimizar a produtividade do milho, mesmo em condições não estressantes, provavelmente devido à melhoria da arquitetura radicular e da eficiência fotossintética. Entretanto, fica evidente que esses benefícios de produtividade não atingiram de maneira eficaz o tratamento de déficit hídrico definindo a importância da irrigação na resposta de aplicação do bioestimulante.

O bioestimulante também não foi capaz de reverter o fechamento estomático e a conseqüente redução da fotossíntese induzida pelo déficit hídrico. Além disso, a putrescina, especialmente em IRPUT, resultou em um acúmulo reduzido de Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Enxofre (S), Ferro (Fe) e Zinco (Zn) na parte aérea, o que merece investigação adicional.

Em suma, a putrescina exógena 50 μ M demonstrou potencial como agente mitigador do estresse oxidativo e como promotor do crescimento radicular, especialmente em condições de irrigação. No entanto, sua aplicação sob déficit hídrico não foi suficiente para reverter os impactos negativos do estresse nas trocas gasosas e na produtividade. Recomenda-se que estudos futuros explorem diferentes concentrações e métodos de aplicação da putrescina como o *priming* de sementes que apresenta grandes resultados na literatura, a fim de otimizar sua eficácia como bioestimulante e protetor contra o estresse hídrico e mecânico em milho.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado em parte por Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código Financeiro 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – Brasil (FAPEMIG) – (APQ-00251-22) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) – Processo 404642/2025-0;303970/2025-1.

REFERÊNCIAS

- AHANGIR, Anahita et al. Drought tolerant maize cultivar accumulates putrescine in roots. **Rhizosphere**, v. 16, p. 100260, 2020.
- AHMAD, B., Raina, A., and Khan, S. (2019). “Impact of biotic and abiotic stresses on plants, and their responses,” in **Disease Resistance in Crop Plants**, ed. S. Wani (Cham: Springer), 1–20. doi: 10.1007/978-3-030-20728-1_1
- ALCAZAR, R. et al. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. **Biotechnology Letters**, v. 28, n. 23, p. 1867-1876, 2006.
- ALCAZAR, R. et al. Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. **Planta**, v. 231, n. 6, p. 1237-1249, 2010.
- ARSHAD, A.; ABBAS, A.; REHMAN, A. U. Mechanism of drought stress tolerance in maize. **Biological and Agricultural Sciences Research Journal**, v. 2022, n. 1, p. 3-3, 2022.
- ASLAM, Muhammad; MAQBOOL, Muhammad Amir; CENGIZ, Rahime. Drought stress in maize (zea maysl.) **Effects, resistance mechanisms, global achievements**. Cham: Springer, 2015.
- BADAWY, M.E.I; RABEA, E.I. A biopolymer chitosan and Its derivatives as promising antimicrobial agents against plant pathogens and their applications in crop protection. **International Journal of Carbohydrate Chemistry**, [S. l.], v. 2011, p. 1-29, 2011.
- BAZVAND, Faezeh et al. Can exogenous application of putrescine and priming modulate salinity stress in *Camelina sativa* L?. **Industrial Crops and Products**, v. 222, p. 119711, 2024.
- BRADFORD, Marion 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.
- BRITO, Marcos Eric Barbosa et al. Crescimento, fisiologia e produção do milho doce sob estresse hídrico. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 5, p. 1244-1254, 2013.
- CAMPOS, A. J. DE M.; SANTOS, S. M.; NACARATH, I. R. F. F. Estresse hídrico em plantas: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e311101523155, 19 nov. 2021.
- CARVALHAIS, M. C. et al. Aplicação foliar de quitosana e seus derivados promove a resposta antioxidante de híbrido de milho sob déficit hídrico. 2018.
- CHEN D, Shao Q, Yin L, Younis A, Zheng B (2019) Polyamine function in plants: metabolism, regulation on development, and roles in abiotic stress responses. **Front Plant Sci**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01945>
- CHE-OTHMAN, M. H. et al. Wheat mitochondrial respiration shifts from the tricarboxylic acid cycle to the GABA shunt under salt stress. **New Phytologist**, v. 225, n. 3, p. 1166–1180, 1 fev. 2020.
- COÊLHO, Jackson Dantas. Agricultura: **Milho Produção e Mercado**. 2023.
- CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira [de] Grãos, v. 9 - safra 2022/23: décimo segundo levantamento: setembro 2023. Brasília, DF: **Conab**, 2022.
- DHANYALAKSHMI, K. H., Soolanayakanahally, R. Y., Rahman, T., Tanino, K. T., and Nataraja, K. N. (2019). “Leaf cuticular wax, a trait for multiple stress resistance in crop plants, in *Abiotic and Biotic Stress in Plants*”, ed. B. A. De Oliveira (London: IntechOpen).
- EDMEADES, G. O. (2013). **Progress in Achieving and Delivering Drought Tolerance in Maize: An Update**. Ithaca: ISAAA.

FAO (2021). **The Impact of Disasters and Crises on Agriculture and Food Security**. Rome: Food and agriculture organization of the United Nations.

FERREIRA, Janaína Piza et al. How does early defoliation influence the morphophysiology and biochemical characteristics of maize?. **Plant Growth Regulation**, p. 1-15, 2024.

GARCÍA-LIMONES, Carmen et al. **Induction of an antioxidant enzyme system and other oxidative stress markers associated with compatible and incompatible interactions between chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris***. *Physiological and molecular plant pathology*, v. 61, n. 6, p. 325-337, 2002.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. **Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants**. *Plant Physiology*, v.59, p.309-314, 1977.

GONG, F., Yang, L., Tai, F., Hu, X., and Wang, W. (2014). **“Omics” of maize stress response for sustainable food production: opportunities and challenges**. *Omics J. Integr. Biol.* 18, 714–732. doi: 10.1089/omi.2014.0125

GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, Ana Isabel et al. Putrescine: A key metabolite involved in plant development, tolerance and resistance responses to stress. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 6, p. 2971, 2022.

GUO, Yuling et al. Increase in root density induced by coronatine improves maize drought resistance in North China. **The Crop Journal**, v. 11, n. 1, p. 278-290, 2023.

HAIDER, I., Andreo–Jimenez, B., Bruno, M., Bimbo, A., Floková, K., Abuauf, H., et al. (2018). **The interaction of strigolactones with abscisic acid during the drought response in rice**. *J. Exp. Bot.* 69, 2403–2414. doi: 10.1093/jxb/ery089

HAVIR, Evelyn A.; MCHALE, Neil A. **Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves**. *Plant physiology*, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

HENDGES, Flávia Bordignon et al. Avaliação enzimática e fisiológica de plântulas de milho submetidas à seca. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 4, n. 2, p. 52-63, 2015.

HOPPEN, S.M. **Crescimento e desenvolvimento de alfafa (*Medicago sativa*L) com diferentes níveis de dormência e frequências de desfolhação contrastantes**. 2021.

JUCÁ, A. C. C. **Respostas morfofisiológicas em mudas de coqueiro após desfolha artificial em simulação ao ataque de *Opsiphanes invirae* (Lepidoptera:Nymphalidae)**.2019. Tese. Doutoradoem Agronomia. UFRA, [S.I.], 2019.

KAMIAB, Fereshteh; TAVASSOLIAN, Iraj; HOSSEINIFARAHI, Mehdi. **Biologia futura: the role of polyamine in plant science**. *Biologia Futura*, v. 71, p. 183-194, 2020.

KARAM, D.; BORGHI, E.; MAGALHAES, P.C.; PAES, M.C.D.; PEREIRA FILHO, I.A.; MANTOVANI, E.C.; SOUZA, T.C.; ADEGAS, F.S. **Antecipe: cultivo intercalar antecipado**. Brasília, DF: Embrapa, 120 p., 2020.

LAMAOU, M., Jemo, M., Datla, R., and Bekkaoui, F. (2018). **Heat and drought stresses in crops and approaches for their mitigation**. *Front. Chem.* 6:26. doi: 10.3389/fchem.2018.00026

LICHTENTHALER, Hartmut K.; BUSCHMANN, Claus. **Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy**. *Current protocols in food analytical chemistry*, v. 1, n. 1, p. F4. 3.1-F4. 3.8, 2001.

LI, K.; LIU, Z.; GU, B. **Compensatory growth of a submerged macrophyte (*Vallisneria spiralis*) in response to partial leaf removal: Effects of sediment nutrient levels**. *Aquatic Ecology*, v. 44, n. 4, p. 701–707, dez. 2010.

- LI L, Gu W, Li C, Li W, Li C, Li J, Wei S (2018). **Exogenous spermidine improves drought-tolerance in maize by enhancing the antioxidant defence system and regulating endogenous polyamine metabolism.** *Crop Pasture Sci* 69:1076–1091
- LIN, Jiu-Sheng; WANG, Gen-Xuan. **Doubled CO₂ could improve the drought tolerance better in sensitive cultivars than in tolerant cultivars in spring wheat.** *Plant Science*, v. 163, n. 3, p. 627-637, 2002.
- LI Z, Zhou H, Peng Y, Zhang X, Ma X, Huang L, Yan Y (2015). **Exogenously applied spermidine improves drought-tolerance in creeping bentgrass associated with changes in antioxidant defense, endogenous polyamines and phytohormones.** *Plant Growth Reg* 76:71–82
- LIZÁRRAGA-PAULIN, E.G. et al. **Chitosan application in maize (*Zea mays*) to counteract the effects of abiotic stress at seedling level.** *African Journal of Biotechnology*, Nigéria, v. 10, p. 6439-6446, 2011.
- LU, Y., Hao, Z., Xie, C., Crossa, J., Araus, J. L., Gao, S., et al. (2011). **Large-scale screening for maize well-watered environments.** *Field Crop Res.* 124, 37–45. doi: 10.1016/j.fcr.2011.06.003
- MAAZOU, Abdoul-Raouf Sayadi et al. **Breeding for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.).** *American Journal of Plant Sciences*, v. 7, n. 14, p. 1858, 2016.
- MOCREADY, R. M. et al. **Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas.** *Analytical Chemistry*, v. 22, p. 1156-1158, 1950.
- MILLER, G.L. **Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar.** *Analytical Chemistry*, v. 31, p. 426, 1959.
- MOHAMMADI-CHERAGHABADI, Maryam et al. Effects of water-deficit stress and putrescine on performances, photosynthetic gas exchange, and chlorophyll fluorescence parameters of *Salvia officinalis* in two cutting times. **Food Science & Nutrition**, v. 10, n. 5, p. 1431, 2022.
- MOHAMMADI, H., Ghorbanpour, M., & Brestic, M. (2018). Exogenous putrescine changes redox regulations and essential oil constituents in field-grown *Thymus vulgaris* L. under well-watered and drought stress conditions. **Industrial Crops and Products**, 122, 119–132
- MONDAL, M. M. A. et al. **Foliar application of chitosan improves growth and yield in maize.** *J. Food Agric. Environ*, v. 11, n. 2, p. 520-3, 2013.
- NAKANO, Yoshiyuki; ASADA, Kozi. **Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts.** *Plant and cell physiology*, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.
- NANDY, Samapika et al. **Role of polyamines in molecular regulation and cross-talks against drought tolerance in plants.** *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 42, n. 8, p. 4901-4917, 2023.
- OBATA, Toshihiro et al. Metabolite profiles of maize leaves in drought, heat, and combined stress field trials reveal the relationship between metabolism and grain yield. **Plant physiology**, v. 169, n. 4, p. 2665-2683, 2015.
- OLIVEIRA, Halley C.; SALGADO, Ione; SODEK, Ladaslav. **Involvement of nitrite in the nitrate-mediated modulation of fermentative metabolism and nitric oxide production of soybean roots during hypoxia.** *Planta*, v. 237, p. 255-264, 2013.
- NEIVERTH, J. **Remoção do limbo foliar em diferentes híbridos de milho (*Zea mays*) na fase reprodutiva.** 2021. 91 f. Mestrado em Agronomia, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Unicentro –PR, Guarapuava, 2021.
- NUNES, Anita Bueno de Camargo et al. Steel slag and phosphate nutrition of corn inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, p. e00096, 2019.
- PANAHIRAD, Sima et al. **Foliar application of chitosan-putrescine nanoparticles (CTS-Put NPs) alleviates cadmium toxicity in grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Sultana: modulation of antioxidant and photosynthetic status.** *BMC Plant Biology*, v. 23, n. 1, p. 1-17, 2023.

- PARIDA, A. K.; PANDA, A.; RANGANI, J. **Metabolomics-Guided Elucidation of Abiotic Stress Tolerance Mechanisms in Plants**. Em: *Plant Metabolites and Regulation under Environmental Stress*. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 89–131.
- PUIATTI, M.; SODEK, L. **Waterlogging affects nitrogen transport in the xylem of soybean**. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 37, p. 767-773, 1999.
- RIBEIRO, A.C. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª Aproximação Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais**. Ed 1. pp 1-359, 1999.
- SANGOI, L.; VIEIRA, J.; SCHENATTO, D. E.; GIORDANI, W.; BONIATTI, C. M.; IGNA, L. D. ARRUDA, C. E. S.; ZANELLA, J. **Tolerância à desfolha de genótipos de milho em diferentes estádiosfenológicos**. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo, Sete Lagoas*, v. 13, n. 3, p. 300-311, 2014.
- SANTANEN, Arja. **Polyamine metabolism during development of somatic and zygotic embryos of Picea abies (Norway spruce)**. 2000.
- SARUHAN N, Turgut-Terzi R, Kadioglu A (2006). **The effects of exogenous polyamines on some biochemical changes during droughtstress in Ctenanthe setosa (Rosc.) Eichler**. *Acta Biol Hungari* 57:221–229
- SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos. p. 370, 2009.
- SILVA, Luiz Eduardo Bezerra et al. **Desenvolvimento da cultura do milho (Zea mays L.): revisão de literatura**. *Diversitas Journal*, v. 5, n. 3, p. 1636-1657, 2020.
- DE SOUZA, Thiago C. et al. **Early characterization of maize plants in selection cycles under soil flooding**. *Plant Breeding*, v. 131, n. 4, p. 493-501, 2012.
- SOUZA, Thiago Corrêa de et al. **Corn root morphoanatomy at different development stages and yield under water stress**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 51, n. 04, p. 330-339, 2016.
- SUN, Caixia et al. **Metabolic and growth responses of maize to successive drought and re-watering cycles**. *Agricultural water management*, v. 172, p. 62-73, 2016.
- SUZUKI, N., Rivero, R. M., Shulaev, V., Blumwald, E., and Mittler, R. (2014). **Abiotic and biotic stress combinations**. *New Phytol.* 203, 32–43. doi: 10.1111/nph. 12797
- TERZI, Rabiye et al. **Exogenous ascorbic acid mitigates accumulation of abscisic acid, proline and polyamine under osmotic stress in maize leaves**. *Acta physiologiae plantarum*, v. 37, p. 1-9, 2015.
- TOLEDO, C. C. et al. **Putrescine priming effects on chlorophyll fluorescence, antioxidant enzyme activity, and primary metabolite accumulation in maize seedlings under water deficit**. *BIOLOGIA PLANTARUM*, v. 68, p. 22-30, 2024.
- YEMM, E.W.; COCKING, E.C.; RICKETTS, R.E. **The determination of amino-acids with ninhydrin**. *Analyst*, v. 80, n. 948, p. 209-214, 1955.
- ZANDALINAS, S. I., Balfagón, D., Arbona, V., and Gómez-Cadenas, A. (2017). **Modulation of antioxidant defense system is associated with combined drought and heat stress tolerance in citrus**. *Front. Plant Sci.* 8:953. doi: 10.3389/fpls.2017. 00953
- ZHANG Y, Li Z, Li YP, Zhang XQ, Ma X, Huang LK et al (2018). **Chitosan and spermine enhance drought resistance in white clover, associated with changes in endogenous phytohormones and polyamines, and antioxidant metabolism**. *Funct Plant Biol* 45:1205–1222
- ZHANG, X., Wang, X., Zhuang, L., Gao, Y., and Huang, B. (2019). **Abscisic acid Mediation of drought priming-enhanced heat tolerance in tall fescue (Festuca arundinacea) and Arabidopsis**. *Physiol. Plant.* 167, 488–501. doi: 10.1111/ppl. 12975

ZHAO, Jiaqi et al. Exogenous putrescine alleviates drought stress by altering reactive oxygen species scavenging and biosynthesis of polyamines in the seedlings of Cabernet Sauvignon. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 767992, 2021.