

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

JESSIKA RAMOS PEREIRA ROCHA

**“Influência da aplicação de derivados de Trealose nos metabólitos primários
de Milho em déficit hídrico”**

Alfenas/MG

2021

JESSIKA RAMOS PEREIRA ROCHA

“Influência da aplicação de derivados de Trealose nos metabólitos primários de Milho em déficit hídrico”

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Ambientais, com ênfase Tecnologia Ambiental Aplicada, pela Universidade Federal de Alfenas/UNIFAL-MG.

Orientador: Prof. Dr. Plínio Rodrigues dos Santos Filho

Coorientador: Prof. Dr. Thiago Corrêa de Souza

Alfenas/MG

2021

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central – Campus Sede

Rocha, Jessika Ramos Pereira

R672i “Influência da aplicação de derivados de Trealose nos metabólitos primários de milho em déficit hídrico” / Jessika Ramos Pereira Rocha – Alfenas, MG, 2022.
39 f.: il. –

Orientador: Plínio Rodrigues dos Santos Filho
Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Federal de Alfenas, 2021.
Bibliografia.

1. Milho. 2. Inibidor. 3. Estresse hídrico. I. Santos Filho, Plínio Rodrigues dos. II. Título.

CDD- 577

JESSIKA RAMOS PEREIRA ROCHA

"Produção de metabólitos primários em milho (*Zea mays*) submetido, à déficit hídrico em resposta a tratamento com derivados semissintéticos de trealose"

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova condicionalmente a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Ambientais.

Aprovada em: 24 de novembro de 2021

Prof. Dr. Plinio Rodrigues dos Santos Filho

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Adriano Bortolotti da Silva

Instituição: Faculdade de Ciências Agrárias

Prof. Dr. Breno Régis Santos

Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Plinio Rodrigues dos Santos Filho, Professor do Magistério Superior**, em 24/11/2021, às 11:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Breno Régis Santos, Professor do Magistério Superior**, em 24/11/2021, às 11:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **ADRIANO BORTOLOTTI DA SILVA, Usuário Externo**, em 24/11/2021, às 11:55, 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 **0636516** e o código CRC **0C01D9AE**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, por cada oportunidade cedida, e por sua maravilhosa obra diária aos que nos rodeiam, desde o simples fato do brotar da menor semente classificada, até à capacidade resiliente de sobrevivência, após geadas, granizos, deficiência nutricionais, bases de apoio tão pobres, como classificam os solos de nossa tão amada pátria, as plantas, não só brotam, como também florescem, e algumas dependem deste estresse para isto, algumas resultam em frutos. Que possamos sempre nos basear nesta necessidade de sobreviver.

Ao meu amado, amigo, companheiro, referência, confidente, guerreiro, Sérgio, vencedor, por insistir, persistir, constância, e programação de programas que amo, sendo sempre surpreendente em todos os aspectos... Que todos os dias não se esquivou em perguntar, "*e aí tah dando certo?*", ou "*tenta de outra forma!*", e até mesmo amor, muitas vezes pelo silêncio, porque também tem seu valor. Sempre me engaja a prosseguir. Amor, é uma bênção poder contar com você! Te amo!

Aos meus familiares, que durante esta jornada, em meio a lutas, sorrisos, mesmo àqueles em meio as lágrimas se envolveram, sempre destaco minha irmã Samantha pelas confidências, amizade, pela alegria nos olhos, mãe pela simples presença, o em que faz ouvir sua voz e força e pai, pai, hoje *in memoriam*, isso não tem preço, desejo sempre paz, amor e saúde. Amo vocês. Obrigada por poder contar com vocês!

Aos técnicos, colaboradores, professores doutores da Unifal, por compartilhar sempre, o meu obrigada, à banca que se comprometeu, orientou de alguma forma se envolveu, obrigada por poder contar com vocês!

Ao programa de Melhoramento de Milho e Sorgo da EMBRAPA.

Aos professores Dr. Plínio e Dr. Thiago pelo profissionalismo, competência, compreensão e presença, obrigada, sempre!

“O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de financiamento 001.”

"Alguns homens vêem as coisas como são, e dizem "Por que?" Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo "Por que não?" (George Bernard Shaw, 1934)

"Não sabendo que era im (possível) foi lá e fez!" (Cocteau, 1955)

" Não desprezem os pequenos começos..." (Zac. 4.10a)

...não há nenhuma planta, que não tenha sido uma semente! ... (Jessika Rocha, 2022)

“Influência da aplicação de derivados de Trealose no metabolismo primário de Milho em déficit hídrico”

RESUMO GERAL

A cultura do milho é uma das principais culturas prejudicadas pela falta de água, o que causa alterações em seu metabolismo, desenvolvimento, reprodução refletindo em sua produtividade. Dentro deste cenário, o híbrido simples BRS 1030[®], criado pela EMBRAPA MILHO e SORGO apresenta ótima produtividade e estabilidade de produção em ambientes acima e abaixo de 700 metros de altitude, porém sensível ao estresse hídrico. Este híbrido é exigente à lavouras de alta tecnologia, principalmente à proteção contra ataques de patógenos comuns, como pulgão, bactérias que causam o enfezamento, dentre outros. Neste sentido, analisou-se este híbrido exposto ao estresse hídrico, recebendo tratamentos à base de semissintéticos de trealose e trealose e seus derivados com a finalidade de mitigação do estresse. Para posterior análise quantitativa da produção dos metabólitos primários. Onde foi possível observar os resultados benéficos, ou seja, a trealose auxiliou a produção e manutenção de metabólitos primários, com vistas à proteção celular do vegetal exposto ao estresse nas fases avaliadas.

Palavras chave: Milho; Inibidor; Estresse hídrico.

“Influence of the application of Trehalose derivatives on the primary metabolism of corn in water deficit”

ABSTRACT

The corn crop is one of the main crops affected by the lack of water, which causes changes in its metabolism, development, reproduction, reflecting on its productivity. Within this scenario, the single hybrid BRS 1030®, created by EMBRAPA MILHO and SORGO presents excellent productivity and production stability in environments above and below 700 meters of altitude, but sensitive to water stress. This hybrid is demanding for high-tech crops, mainly to protect against attacks by common pathogens, such as aphids, bacteria that cause stunt, among others. In this sense, this hybrid exposed to water stress was analyzed, receiving treatments based on semisynthetics of trehalose and trehalose and their derivatives with the aim of mitigating the stress. For further quantitative analysis of the production of primary metabolites. Where it was possible to observe the beneficial results, that is, trehalose helped the production and maintenance of primary metabolites, with a view to cellular protection of the plant exposed to stress in the phases evaluated.

Keywords: Corn; Inhibitor; Water stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ranking Mundial de maiores produtores de milho do ano 2000	15
Figura 2 - Evapotranspiração diária da cultura de milho de ciclo 120 dias.....	17
Figura 3 - Estrutura química da Trealose	20
Figura 4 - Obtenção da Trealose.....	22
Figura 5 - Quantificação dos Açúcares Redutores	30
Figura 6 - Quantificação dos Aminoácidos	31
Figura 7 - Quantificação de Açúcares Redutores	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
UNIFAL	Universidade Federal de Alfenas - Unidade Educacional
CAMPUS II	Santa Clara (Campus II)
Bt	<i>Bacillus thuringiensis</i>
RR	Roundup Read ou RR

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	Objetivo Geral.....	14
2.1.1	Objetivos Específicos.....	14
3	REFERÊNCIAL TEÓRICO	15
3.1	A CULTURA DO MILHO	15
3.2	ESTRESSE HÍDRICO NA CULTURA DE MILHO.....	15
3.3	TREALOSE.....	19
3.4	HIBRIDO BR 1030.....	21
4	METODOLOGIA.....	22
4.1	OBTENÇÃO DOS DERIVADOS DA TREALOSE.....	22
4.2	APLICAÇÃO DA TREALOSE E IMPOSIÇÃO DO ESTRESSE.....	23
4.3	DELIMEAMENTO EXPERIMENTAL.....	24
4.4	APLICAÇÃO DA TREALOSE E DERIVADOS.....	24
4.4.1	Cultivo.....	24
4.4.2	Imposição de estresse hídrico, aplicação da trealose e seus derivados.....	25
4.4.3	Métodos de extração dos metabólitos primários.....	25
4.4.3.1	Análise da extração do amido.....	27
4.4.3.2	Análise da extração do aminoácidos totais.....	27
4.4.3.3	Análise da extração do açucares redutores.....	28
5	RESULTADOS.....	30
6	CONCLUSÃO.....	35
	REFÊRENCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

O milho é taxonomicamente classificado como uma monocotiledônea, pertencente à família *Poaceae* (antiga *Gramineae*), gênero *Zea* e é subdividido em duas espécies: *Zeamays L. spp. Mays* (Milho) e *Zeamays* (Teosinto). Sua origem é proveniente de seleção genética pelas civilizações ocupantes da mesoamérica, que compreende todo o México. Por possuir ambas estruturas sexuais, masculina e feminina, separados na mesma planta, gineceu e androceu, respectivamente, a reprodução cruzada é uma garantia em 100%, sendo desta forma denominada como e inflorescência masculina, pendão e espiga o órgão reprodutor feminino. (Fageria, 1989).

Quando cultivado na América do Sul há mais de 4000 anos, a finalidade usual determinava sua forma de cultivo, obedecendo sistemas complexos. Atualmente com os avanços tecnológicos voltados para promoção de produtividade, o melhoramento das sementes, tiveram somente em 2018/19 um aumento em 24% em produtividade, enquanto que a área plantada, avançou somente 5%.

Ou seja, o levantamento da CONAB, de safra 2020/2021, estimou que a produção de milho estaria em 106,4 milhões de toneladas, considerando um aumento de 3,7% sobre a produção de 2019/20. São produzidas 24,7 milhões de toneladas na primeira safra, e previsão de 79,8 milhões de toneladas na segunda safra e 1,9 milhão na terceira safra (CONAB, 2020).

Sabe-se que 50% do rendimento final, resulta da cultivar, graças ao plantio comercial de sementes geneticamente modificadas para controle de insetos (Bt) e de plantas invasoras (RR).

Considerado como principal cereal cultivado no mundo, o “Sustento da Vida”, como era chamado pelos índios caribenha, é fonte de matéria prima para a alimentação humana e animal, além de matéria-prima para diversos fins industriais. (PAES, 2006). No Brasil é um dos cereais mais cultivados, com cerca de 54,37 milhões de toneladas produzidas por ano (Cruz *et al.*, 2010).

Em geral, a cultura do milho tem sido prejudicada pelas mudanças climáticas principalmente pelo aquecimento global. Sofrendo danos diretos provocados com a mudança do regime de chuvas e modificações do solo, assim como o aumento das

temperaturas. Ocasionalmente ocasionando uma perda da produtividade e conseqüentemente causando prejuízos na alimentação de muitas pessoas (Conrado *et al.*, 2019).

Considerando que a necessidade hídrica do milho durante seu ciclo vegetativo, é em torno de 600 mm (Aldrich *et al.*, 1982).

Estudos indicam que a redução no rendimento da produção, pode ocorrer mesmo em anos considerados climaticamente favoráveis, uma vez que o déficit hídrico ocorre em determinados períodos do ciclo vegetativo, considerados críticos para a produção, seja ele da pré-floração ao início do enchimento dos grãos (Bergamaschi *et al.* 2004).

Déficit hídrico, no período vegetativo, reduzirá o desenvolvimento do milho, devido diminuição da área foliar e da biomassa, apesar da formação de todos os componentes relativos ao rendimento não serem formados neste estágio, os efeitos na produtividade final dos grãos, serão atenuados se as condições hídricas foram satisfatórias, garantindo bons rendimentos de grãos. Temos também que considerar, que uma vez este estresse ocorra no período que abrange a pré-floração ao início do enchimento de grãos, a capacidade reprodutiva da cultura poderá não ocorrer de forma satisfatória, uma vez que eventos reprodutivos, na cultura do milho, são mais rápidos dos que estádios vegetativos (Morizet & Togola, 1984). De modo que, os processos de formação de zigoto e início de enchimento de grãos, é considerada a fase mais crítica, para a cultura se expor ao estresse, podendo ser causado por modificações climáticas, elevada transpiração, resultante da máxima área foliar e da elevada carga energética natural da radiação solar (Shussler & Westgate, 1991; Zinselmeier *et al.*, 1995).

Açúcar natural, a trealose, pode ser sintetizada por algumas bactérias, fungos, plantas, animais, podendo ser encontrado em alimentos e cosméticos, possui capacidade de proteção celular, quando estas expostas à condições de estresse, tanto em animais, quanto vegetais. Embora possua tamanha funcionalidade, os estudos empenhados em seus benefícios nos efeitos de estresse em plantas ainda são poucos. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o tratamento com pulverização da mistura de derivados de trealose azídica e tosilada, em plantas de milho não resistente à exposição em situação de déficit hídrico, para verificar a capacidade da trealose em mitigar o estresse gerado

pelo déficit hídrico, nas fases iniciais da cultura, por meio da análise da produção de aminoácidos e poliaminas.

2 OBJETIVOS

2.1.1 Objetivos gerais

Comparar o efeito mitigador da trealose e da mistura de seus derivados (tosila e azídica) sobre o déficit hídrico em plantas híbridas de milho, suscetíveis ao estresse hídrico.

2.1.2 Objetivos específicos

- a) Quantificar estatisticamente a produção de metabólitos primários pós coletas pré programadas, em exemplares do híbrido;
- b) Avaliar níveis estatísticos produzidos por aminoácidos, açucares redutores e açucares totais, pós tratamento externo com trealose e trealose e seus derivados em coleta, até o estágio V6, da cultura de milho.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A CULTURA DO MILHO

Os 3 maiores produtores mundiais de milho são Estados Unidos, China e Brasil, representando 378,5; 260 e 110 mil toneladas respectivamente, somando 65% de toda a produção mundial (Figura 01) (Kappes *et al.* 2015, USDA e Siga/MS, 2020).

Figura 01- Ranking mundial de maiores produtores de milho do ano de 2020.

Produção de Milho - Relatório USDA - Prev. Set.2020		
País	Em Mil Toneladas	Ranking
Estados Unidos	378,46	1
China	260,00	2
Brasil	110,00	3

(Fonte: USDA e Siga/MS, 2020.)

No Brasil o milho é cultivado em todo o território nacional e tem grande importância social, econômica e alimentar, estando relacionado a agricultura familiar (Brito *et al.*, 2013). Essa importância econômica ocorre devido as várias formas de sua utilização suprimindo desde a alimentação animal (criação de aves e suínos) até a produção de embalagens biodegradáveis e medicamentos (Garcia *et al.*. 2006).

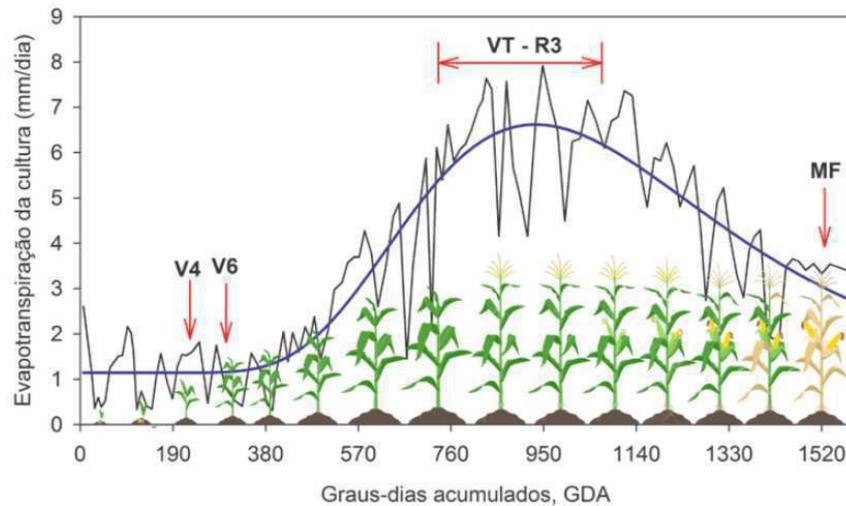
Sua produção anual ocorre em duas etapas, a primeira realizada durante o período chuvoso entre agosto e novembro e a segunda conhecida como safrinha que ocorre entre fevereiro e março (Garcia *et al.* 2006). O crescimento, a produtividade de grãos e de matéria seca é limitada pela disponibilidade de água, variação de temperatura, quantidade de radiação solar/luminosidade (Cruz *et al.*. 2010). Por tratar-se de uma planta do grupo C4, a alta eficiência fotossintética e grande aproveitamento da luminosidade em todo o ciclo vegetativo, resulta em maior

sensibilidade à variação fotossintética, no início da fase reprodutiva, ou seja, após o pendoamento, período entre 10 a 15 dias, uma vez que a redução da luminosidade resulta em diminuição expressiva na densidade dos grãos(massa verde), um período de 25 dias nublados e até mesmo chuvosos, a perda dos grãos pode chegar a 40%, apesar de nesta situação a planta se apresentar vistosa. (Maldaner *et al.*, 2014).

As plantas pertencentes ao grupo C4, são subdividas em 3 subgrupos em conformidade com a enzima descarboxilativa, o milho pertence ao subgrupo de maior eficiência de metabolismo fotossintético, onde o uso da radiação solar ou sua eficiência quântica possui o valor médio entre 64,5 e 69 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$; ao passo que as demais estão entre 52 e $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$; Esta eficiência deve-se ao fato da anatomia foliar, onde a área entre as nervuras e lamela suberizada, indicando déficit em perda de CO_2 para o meio,(Harttersley, 1984), ocorrendo apenas a produção de carboidratos, aumentando a concentração do CO_2 na bainha perivascular, favorecendo a ação carboxilase da rubisco (Berg. *et al.*. 2002). Para expressão de seu máximo potencial produtivo, a cultura requer temperatura alta, ao redor de 24 e 30°C, radiação solar elevada e adequada disponibilidade hídrica do solo, durante todas as fases de seu desenvolvimento.

O período de germinação/emergência das sementes, define o potencial produtivo. Na fase vegetativa a estiagem, reduz a velocidade de crescimento inicial, prejudicando o número de folhas diferenciadas, à partir do período V6 (6 folhas expandidas) até a fase VT (florescimento), o requerimento diário hídrico fica em torno de 7mm/dia, em conformidade com aumento da área foliar (Figura 02). Neste período, o tamanho da espiga (número de fileiras e número de óvulos por fileira na espiga), expandindo a área foliar bem como os entrenós (Martin Weismann, 2007).

Figura 02 - Evapotranspiração (ET_c) diária da cultura do milho de ciclo de 120 dias, com a apresentação dos graus-dias necessários para atingir cada estágio específico. A linha contínua (escura) representa a variação diária da ET_c, enquanto a linha contínua (azul) representa o consumo médio ao longo do ciclo.



(Fonte: Carlesso, 1998).

Todo equilíbrio disponibilizado para a cultura, ou seja, condição ambiental dentro dos parâmetros, disponibilidade hídrica favorável, será ineficaz se a nutrição mineral disponibilizada para absorção não for adequada. O nitrogênio por exemplo, trata-se do micro nutriente indispensável para o desenvolvimento saudável da cultura do milho (Fernandes *et al.*, 2005). Estima-se que a necessidade de N para produção de uma tonelada de grãos de milho varie entre 20 a 28kg/ha (Argenta *et al.*, 2002). O N é absorvido pelo sistema radicular da planta, fazendo parte de alguns dos principais constituintes das moléculas da clorofila (Carlin *et al.*, 2012), compondo as mais importantes biomoléculas, tais como aminoácidos, proteínas e nucleotídeos (Hopkins, 1995). E sua deficiência afetará no crescimento (devido sua influência na fotossíntese), síntese de clorofilas, formação de cloroplastos, atividade da enzima rubisco, dentre outras. (Carlin *et al.*, 2012).

A planta em condição de déficit hídrico, desenvolverá prejuízos não somente na absorção, assim como também na assimilação do N pela planta (Santos e

Carlesso, 1998). Uma vez que, o estresse hídrico, aliado à solos com deficiência nutricional em nitrogênio, especificamente, vai acarretar em redução da fotossíntese, diminuição da área foliar, desta maneira, antecipando a senescência foliar. Nos grãos, a redução da produção pode chegar a 82%, uma vez exposta a estes dois fatores(Khan *et al.*, 2018; Parajuli *et al.*, 2018).

3.2 ESTRESSE HÍDRICO NA CULTURA DE MILHO

O aquecimento global vem causando diversas mudanças climáticas, sua atuação na agricultura impacta não só as culturas, assim como também a vida biológica do solo, devido alterações em regimes pluviométricos, assim com as alterações nas temperatura.

Os regimes hídricos alterados ocasionam enchentes, devido o excesso ou estresse hídrico, resultante da estiagem (Conrado *et al.*, 2019).

A deficiência hídrica é considerada a maior causa de redução na produtividade de plantas cultivadas em regiões de clima tropical (Magalhães *et al.* 2002).

As plantas que sofrem estresse hídrico tem maiores concentrações de solutos nos tecidos e menores potenciais osmóticos do que àquelas em condição osmótica adequada (Vilela e Bull, 1999). As restrições causadas pela baixa disponibilidade de água no solo ou pela alta demanda evaporativa ativa certos mecanismos fisiológicos que permitem aos vegetais tolerar limitações climáticas (Magalhães e Durães, 2006). A importância da água está relacionada também com a fotossíntese, uma vez que o déficit hídrico interfere no crescimento das plantas implicando em menor disponibilidade de CO₂ para a fotossíntese (Magalhães e Durães, 2006).

Caso o suprimento de água seja reduzido a absorção de água pela planta se torne menor, a sua transpiração, causará uma condição de déficit hídrico. (Costa *et al.*, 2008). Portanto, a água sendo exsudada continuamente pelo processo de evapotranspiração, resultará na geração de um balanço hídrico desfavorável,

aumentando perda de água, não sendo reposta, ou seja, trata-se de uma condição necessária e não favorável para a sua sobrevivência.

Nas suas células, a água está quimicamente associada aos constituintes do protoplasma e esse déficit hídrico representa um impacto negativo substancial no crescimento e desenvolvimento, bem como alterações em seu comportamento. A irreversibilidade desse estresse pode depender do genótipo, da duração, da severidade e do estágio de desenvolvimento da planta.

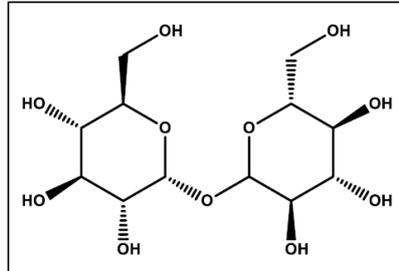
A planta ao identificar a deficiência hídrica, inicia o processo onde o potencial hídrico (Ψ) do apoplasto aos poucos se torna mais negativo que o do simplasto, resultando assim nas reduções do potencial de pressão (turgor) (Ψ_P) e no volume (TAIZ *et al.*, 2017). Como resultado inicial deste processo, ocorre a diminuição da turgescência, sendo esta a primeira e mais sensível resposta à deficiência hídrica. Posteriormente, o metabolismo das proteínas e dos aminoácidos vai se limitando, uma vez que a síntese de nitrato redutase diminui, por ser a enzima mais inibida em condições de déficit hídrico. Esta redução da síntese no metabolismo de proteínas causa a interrupção da divisão celular. Mesmo um estresse moderado causado pela seca diminui a velocidade do processo mitótico, sendo a fase S a mais afetada (Larcher, 2004).

A produtividade do milho diminui muito sob estresse hídrico (Costa *et al.*, 2008), principalmente pelo fato do efeito da água, que associada a produção de grãos, torna-se é importante em três estágios – iniciação floral, período de fertilização e enchimento dos grãos (Magalhães e Durães, 2006). A quantidade de água consumida pela planta de milho durante o seu ciclo está em torno de 600 mm³ (Aldrich *et al.*, 1982). Dois dias de estresse hídrico no florescimento diminuem o rendimento em mais de 20%. Quatro a oito dias diminuem em mais de 50%. (Fancelli, 2000). Em torno de 95% do cultivo do milho em regiões tropicais é realizado em áreas sujeitas ao déficit hídrico (Magalhães *et al.*).

3.3 TREALOSE

A trealose, é um dissacarídeo natural não-redutor formado a partir da ligação α - α de duas moléculas de D-glicose (1- α -D-glicanopiranosil- α -D-glicanopiranosídeo) (Figura 03) (Muller; Boller; Wiemken, 1995).

Figura 03 - Estrutura Química Da Trealose.



Fonte: Muller; Boller; Wiemken, 1995

Este dissacarídeo é isômero químico de outros dois compostos com estruturas diferentes (Almeida *et al.*, 2007). Está presente em uma variedade de microrganismos, como insetos, plantas e fungos.

A trealose considerada a chave do processo de tolerância a estresse abiótico incluindo a seca (Fernandez *et al.*, 2010).

Com relação à rota metabólica, a trealose nas plantas é oriunda de moléculas de UDP-glicose e glicose-6-fosfato. O resíduo D-glicose da molécula UDP-Glicose é transferido para glicose-6-fosfato, acoplando-as através da enzima trealose-6-fosfato sintase (TPS), formando assim a molécula trealose-6-fosfato, a qual é desfosforilada em trealose através da enzima trealose-6-fosfato fosfatase (TPP) (Lunn *et al.*, 2014).

Podendo ser utilizada no armazenamento de células, tecidos ou órgãos (vegetal ou animal) na forma desidratada, facilitando o transporte (Guo *et al.*, 2000; Crowe, 2014; Lee; Moon; Kang, 2015). Existem três mecanismos e ação da trealose em plantas em deficiência hídrica: (1) formação interna de ligação de hidrogênio, (2) a hiperhidricidade e (3) estabilidade química (Roser, 1991; Almeida *et al.*, 2007).

As propriedades físicas das membranas celulares e das organelas são totalmente alteradas pela desidratação celular. Devido à composição da bicamada lipídica das membranas a falta de água pelo estresse de seca pode modificar seu estado de fluido cristalino para sólido-gel, ficando desestabilizada. A estabilidade

das estruturas protéicas são importantes para preservação das membranas celulares, sobretudo, quando em déficit hídrico, para evitar danos estruturais irreversíveis (Crowe; Crowe; Chapman, 1984).

3.4 HIBRIDO BR 1030

A demanda por maior rendimento das lavouras, em uma mesma área produtiva, leva pesquisadores em busca de genótipos melhorados, mais resistentes à seca, susceptíveis às pragas e doenças entre outras práticas culturais mais modernas, minimizando intempéries que a cultura possa em algum momento se expor, prejudicando assim sua produtividade.

Os híbridos apresentam maior tolerância às intempéries abióticas a que estão expostos. Seu potencial produtivo, quando avaliado com variedades tidas como convencionais, é geneticamente melhor e maior. Na teoria os híbridos simples, são consideravelmente mais produtivos e uniformes (Silva *et al.*, 2014).

Como uma das principais características do híbrido BRS 1030, está a alta produtividade e maior capacidade de sanidade foliar em relação aos demais híbridos comuns do mercado.

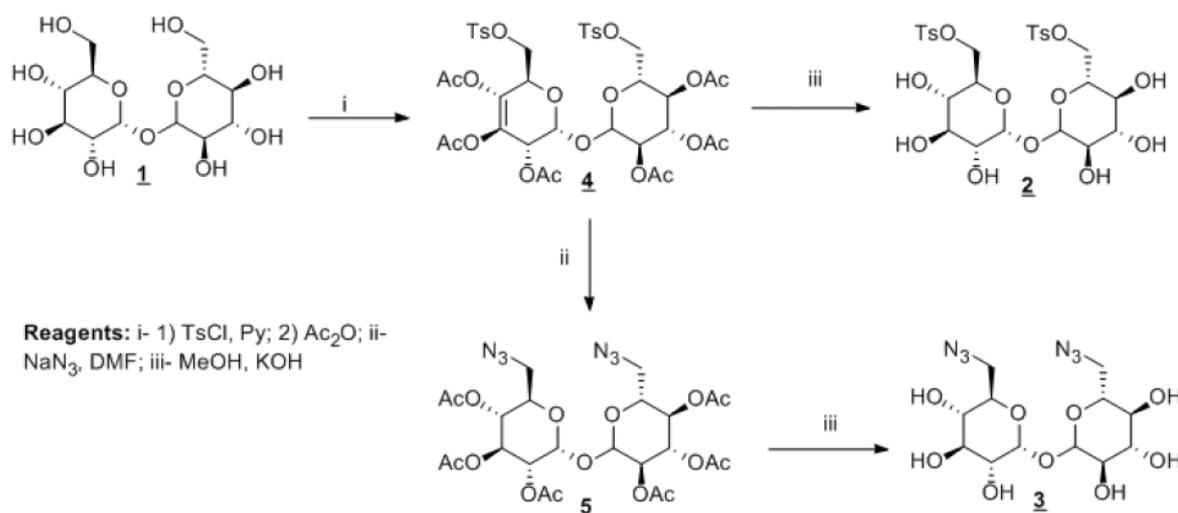
Cultivo comum em áreas acima e abaixo de 700m de altitude, possui estabilidade produtiva e resistência ao acamamento e quebramento de colmo, possuindo ainda, porte baixo, tipo de grão semiduro e coloração laranja, características atrativas ante ao produtor e ao mercado. (Parentoni *et al.*, 2004).

4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO DOS DERIVADOS DE TREALOSE

Serão utilizados 11 derivados de trealose, destes sendo 7 derivados do tipo triazóis, 2 do tipo amida e 2 do tipo sulfonamida. Estes 11 compostos serão obtidos a partir da rota a seguir, na figura 04:

Figura 04 - Obtenção da Trealose - Reação de semissíntese dos derivados de trealose. A figura mostra as estruturas químicas da trealose (**1**); da trealose tosilada, 6-O-[(4-metilfenil)sulfonyl]- α -D-glicopiranosídeo de 6-O-[(4-metilfenil)sulfonyl]- α -D-glucopiranosila (**2**); trealose azídica, 6-azido-6-desoxi- α -D-glucopiranosídeo de 6-azido-6-desoxi-D-glucopyranosila (**3**); e os derivados intermediários 2,3,4-tri-O-acetil-6-O-[(4-metilfenil)sulfonyl]- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-O-acetil-6-O-[(4-metilfenil)sulfonyl]- α -D-glucopiranosila (**4**); e 2,3,4-tri-O-acetil-6-azido-6-desoxi- α -D-glucopyranosídeo de 2,3,4-tri-O-acetil-6-azido-6-desoxi- α -D-glucopyranosila (**5**).



Fonte:(Lisa, *et al.*, 2017).

4.2 APLICAÇÃO DA TREALOSE E IMPOSIÇÃO DO ESTRESSE

O experimento foi realizado na Casa De Vegetação No Campus II, integrante da Universidade Federal De Alfenas-MG. Utilizamos o genótipo de milho BRS 1030, classificado como sensível as seca, de acordo com o programa de melhoramento da EMBRAPA, o genótipo BRS 1030.

Para o cultivo, as sementes foram plantadas em vasos de 10 litros preenchidos com solo do tipo Latossolo Vermelho Distrófico Típico, comum na região. Por vaso semeou-se quatro sementes BRS 1030, onde posteriormente foi necessário a realização de desbaste, onde conduzimos somente dois exemplares desse híbrido.

A radiação global e o espectro da radiação dentro da casa de vegetação foram medidos com auxílio de um radiômetro (Instrutherm/MES-100) e de um espectroradiômetro (Model SPR 4002, Luzchem Research, Canadá).

Foi utilizado adubação planejada de acordo com a recomendação obtida da análise química do solo, e os tratamentos fitossanitários que se mostraram necessários à cultura reparados. Diariamente foi feito o monitoramento do teor de água no solo nos períodos da manhã e tarde (9 e 15 horas), respeitando-se o peso inicial dos vasos quando estes estivessem em 100% na capacidade de campo.

Todas as mudas foram conduzidas, recebendo irrigação normal e diária, até que perfizessem o estágio V4. Nesta fase foi feito o desbaste das mudas consideradas inferiores e iniciada a implantação do déficit hídrico em todas as plantas, até que o solo em seu vaso alcançasse a capacidade de campo de 50%. Para os tratamentos hídricos foi seguido os protocolos sugeridos por (Souza e colaboradores 2013).

Na primeira etapa o estresse hídrico imposto foi pelo período de 12 horas. E em uma fase posterior, tratamos o milho com trealose ou trealose seus derivados na concentração de 50 mmol/L, ficando 10 dias sob estresse, de acordo como recomendado por Ali e Ashraf (2011). Após o quinto dia de estresses, realizamos a segunda aplicação da trealose com seus derivados. Sendo estes dissacarídeos dissolvidos em água e Tween-20 (0.1 %) e pulverizados na parte aérea.

Posteriormente ao estresse, os vasos foram selecionados de maneira aleatória e depois pesados. Com essa diferença entre peso inicial e peso atual foi realizado uma média aritmética, para que a quantidade hídrica em todos os vasos fosse igual. (Souza *et al.*, 2013). No cultivo a umidade do solo foi mantida por meio da pesagem dos vasos em balanças analógicas, repondo da água evapotranspiração.

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os ensaios foram esquematizados em delineamento inteiramente casualizado, com 5 métodos de condução, sendo eles: (déficit hídrico (D.H.), déficit hídrico + trealose (D.H.+TREA), déficit hídrico + dois derivados (D.H.+A+B), e Irrigado (IRRI)), em 4 repetições cada e 4 vasos, totalizando 64 vasos.

4.4 APLICAÇÃO DA TREALOSE E DERIVADOS

No experimento, a aplicação da trealose e da trealose + derivados, foi conduzido com o auxílio de um pulverizador manual com capacidade para 2l, os tratamentos foram administrados nas faces foliares adaxial e abaxial 12h antes da imposição do estresse e 5 dias depois. Após atingirem o estágio V5/V6, foi imposto o estresse, o qual persistiu por 12 dias seguido de reidratação.

4.4.1 Cultivo

O experimento foi conduzido na casa de vegetação em temperatura entre 25 e 30 °C respectivamente e a umidade relativa média de 74,44%. A radiação global

foi medida através de um radiômetro (Instrutherm/MES-100) obtendo um valor médio de $0,4140 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$; ao meio dia.

As plantas permaneceram todo o experimento em vasos com capacidade de 10 litros. A adubação foi feita de acordo com a recomendação da análise química do solo, aplicando-se no momento do plantio 11g de superfosfato simples por vaso ($18\% \text{P}_2\text{O}_5$). Cada vaso recebeu 4 sementes de milho híbrido BRS 1030, sensível ao déficit hídrico (Souza *et al.*, 2013) vindo do Programa de Melhoramento da EMBRAPA. Após a emergência, foi efetuado raleio para manter duas plantas por vaso.

Nessa etapa, realizou-se a adubação necessária por meio de solução e aplicados 1 mg dm^{-3} de boro e 2 mg dm^{-3} de zinco, empregando-se as fontes p.a. H_3BO_3 (11% B) e ZnSO_4 (20% Zn). Durante a condução do experimento foi realizadas adubações com N e K, por meio de solução, semanalmente após o raleio. Em cada adubação foi administrado 50 mg dm^{-3} de N e 117 mg dm^{-3} de K e as fontes utilizadas foram a uréia (45% N) e o KCl (50% K_2O).

4.4.2 Imposição do déficit hídrico, aplicação de trealose e seus derivados

O teor de água no solo foi monitorado por meio de pesagens dos vasos nos períodos da manhã e da tarde (8 e 18 h) com um auxílio de uma balança digital 25kg (Modelo 200SS, Black Bull, São Paulo, SP). A reposição hídrica foi realizada com base nas leituras obtidas com a diferença de pesos dos vasos e a água foi repostada até a capacidade de campo (CC) durante o período que antecedeu a imposição dos tratamentos. Esses cálculos foram realizados com o auxílio de uma planilha eletrônica.

Foram impostos dois tratamentos: irrigado (IRRI) e déficit hídrico (WD) no estádio de 4 folhas totalmente expandidas (V4). O primeiro consistiu na irrigação diária até o solo alcançar 70% da capacidade de campo (CC) e o segundo a irrigação foi realizada aplicando-se 55 % da água total disponível.

Doze horas antes da imposição do déficit hídrico as plantas foram submetidas aos seguintes tratamentos: trealose na concentração de 30 mM (Sigma, St. Louis,

MO, USA) mistura dos derivados de trealose (azida + tosila) na concentração de 15 mM cada totalizando 30mM. As concentrações foram baseadas pelo que foi recomendado por (Ali e Ashraf 2011). Uma segunda aplicação foi realizada no quinto dia de déficit hídrico. Os dissacarídeos foram dissolvidos em água e etilenoglicol (20%) e pulverizados na parte aérea com um pulverizador mecânico de pressão (Guarani, PCP1P, capacidade de 2 litros) na proporção de 12,5 mL planta⁻¹ em cada aplicação. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), compreendendo 4 condições: déficit hídrico (WD), déficit hídrico com pulverização de trealose (WD+TRE), déficit hídrico com pulverização da mistura dos derivados de trealose (WD+TD) e irrigado (IRRI), cada um com 5 repetições.

As análises foram realizadas 24h após a pulverização (1dwd), no final do período de estresse hídrico (12 dias de déficit hídrico, 12dwd), 12h após o reestabelecimento hídrico (rehy) até o solo atingir 70% da capacidade de campo. Contudo não se procedeu a comparação estatística entre os dias, apenas entre os tratamentos.

4.4.3 Método de extração dos metabólitos primários

Os metabólitos primários foram extraídos como descrito por Santos Filho *et al.*, 2014, por meio da homogeneização de 300gr das amostras congeladas em almofariz com metanol/clorofórmio/água (12:5:3, v/v).

O homogeneizado resultante foi incubado em temperatura ambiente por 24 h e posteriormente centrifugado por 30 min a 1500 rpm. E o sobrenadante coletado para posterior mistura com clorofórmio e água (4:1:1,5, v/v). Após 24h, a fase aquosa foi coletada com auxílio de pipeta graduada, e seu volume devidamente anotado, para análise de aminoácidos e açúcares solúveis e redutores.

O amido foi extraído a partir do pellet oriundo da centrifugação pela incubação com ácido perclórico 30%. As amostras são armazenadas em nitrogênio líquido até o momento da análise.

4.4.3.1 – Análise de extração do amido

Os pellet's tidos como sobra da extração dos aminoácidos foram utilizados para realização desta análise, conforme descrito por McCready *et al.*, 1950, e a eles foram adicionados 1 mL de ácido perclórico (HClO₄) 30%. Posteriormente, as amostras foram agitadas ocasionalmente por 10 min., no agitador automático, à 500 rpm, onde pôde-se obter a solução para determinação do teor de amido pela reação com antrona (este reagente deve ser preparado e utilizado em banho-gelo. Sempre adicionar o ácido em água. Procedimento realizado na capela.).

Para cada alíquota de 1 mL da fração aquosa de amostra (proporção 20µL amostra + 980 µL H₂O destilada), adicionou-se 2 mL do reagente antrona, sempre em banho de gelo, lentamente pela parede do tubo de ensaio. E para perfeita homogeneização do meio todas as amostras foram agitadas no vórtex. Posteriormente, as amostras cozinharam por 5min., em banho-maria, onde após o resfriamento e o nanômetro foi ajustado para realização da leitura à 620nm, para determinação da absorbância das amostras.

4.4.3.2 - Aminoácidos totais

Os aminoácidos totais, foram extraídos à partir do Ensaio de Ninhidrina (Yemm & Coccking 1955), a curva padrão e a solução estoque foram realizados à partir da solução de Glicina, onde o procedimento que obtivemos a curva padrão de aminoácidos (aa) foi a partir de uma solução de glicina (0,1mol/mL), e para a solução estoque preparamos: 10µM de glicina = 0,015g p/ 20ml em H₂O. E esta foi diluída até 0,1µmol/mol(10µM = 100ml de água destilada para cada 10ml de glicina. (0,1µmol/mol = 100µM);

Após completa diluição da solução Glicina, preparou-se os reagentes A, B e C, conforme segue, o reagente A denominado Tampão de Citrato de Sódio à : 0,2M,

com leitura do pH à 5,0, composto de 1,47g de citrato de sódio para 25 ml de H₂O destilada, onde o pH foi aferido para manter-se em 5 e armazenado na geladeira. O reagente B, denominado Ninhidrina 5% em metilglicol, estava na proporção de 0,5g de ninhidrina para 10mL metilglicol ((metilcelosolve) etilenoglicolmonometil éter). E o reagente C, Cianeto de Potássio à 2%, (KCN 2%) adicionado em metilglicol. Preparou-se solução estoque de KCN à 0,01M(= 65,12 g/mol), adicionando-se em recipiente, 0,065g de cianeto de potássio para 100mL H₂O, e para a preparação do o KCN 2%, pipetou-se 2 mL da solução estoque à 0,01M, e completando para 100mL de metilglicol (armazenado em frasco de âmbar ainda coberto por papel alumínio). Adotando-se que as soluções B e C fora, feitas e misturadas com 24 horas de antecedência (over-nigth), na proporção 1:5(sendo 10mL de B para 50mL de C). A solução B ninhidrina, foi ser preparada na semana do uso e armazenada em vidro escuro

O preparo do Etanol 60% v/v, obedeceu a concentração (em 100ml, contendo 60% de álcool e 40% água). Os tubos em duplicata, apresentavam 1mL da amostra, conforme protocolo, e cada recebeu uma tampa de papel alumínio, para que desta forma seu volume não sofresse alteração com o borbulhamento do banho-maria, percorridos durante 20 min., sempre com temperatura próxima de 100⁰C, e cuidando para que a água não se secasse. Contados 20 min., os tubos foram retirados e esfriados em temperatura ambiente, após resfriamento, adicionamos à solução 1300 L de álcool 60%, agitados novamente para perfeita mistura, para posteriormente iniciar o processo de leitura, sempre na faixa 570nm.

4.4.3.3 - Açúcares redutores

Todos os tubos contendo as alíquotas da amostra, foram extraídos seguindo o padrão DNS, obedecendo o método Miller, 1959.

Para a curva padrão, o preparo da solução estoque de glicose, respeitou-se a concentração de 1%. Adicionou-se primeiramente o reagente DNS, agitando-se a mistura aquecida em banho-maria à 100⁰C por 5 minutos. Após resfriamento em

temperatura ambiente, completou-se o volume do tubo para 5mL com água destilada, para chegar a faixa de 540nm em espectrofotômetro e realizar a leitura. O preparo do DNS inicia-se ao adicionar 10 mL de NaOH à 2N (massa molar do NaOH= 39,997 g/mol, como necessitamos de 2M, usamos 80g/mol de NaOH. = 0,8 g de NaOH para 10 mL de H₂O).

Para o preparo do reagente DNS, considerando o volume de 50 mL de solução, adicionamos 10 mL de NaOH a 2N, 0,5g de DNS; e 150 ml de H₂O destilada, em um tubo de ensaio e misturamos e após mantido reservado para uso.

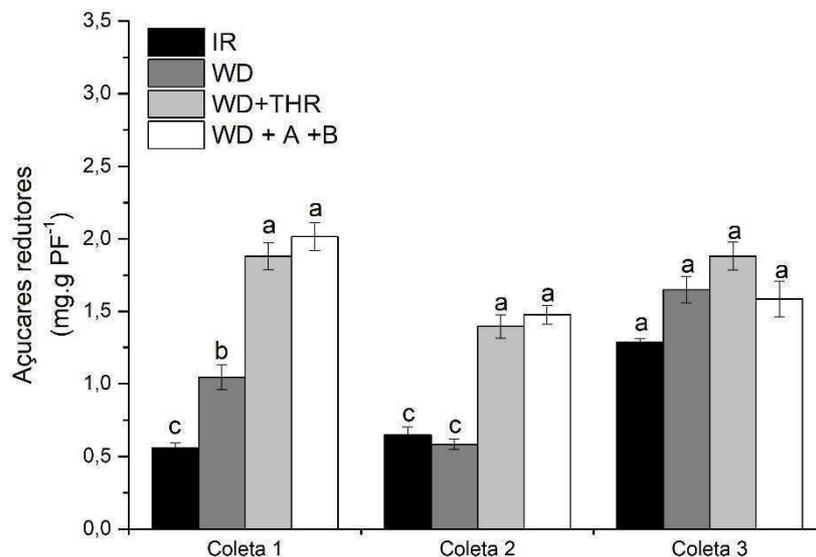
Posteriormente, adicionou-se 15g do Sal De Rochelle e completando-se o volume com água destilada para 50 mL, em uma proveta. O que resultou uma solução alaranjada que foram preparadas em vidro âmbar e coberto por papel alumínio para evitar a instabilidade na presença de luz e ao CO₂. Esse processo só foi feito na hora do uso.

O preparo dos tubos foram em duplicata, com a seguinte seqüência de preparo: 10µL amostra + 740 µL H₂O + 500 µL DNS + banho-maria + 3750 H₂O. Agitando no vórtex e levando ao banho-maria à 100°C por 5 minutos. Após esse processo foi os tubos foram deixados para esfriar em temperatura ambiente. O volume foi completado para 5 ml com água destilada, para poder realizar a leitura a 540nm em espectrofotômetro.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante análises estatísticas dos dados coletados para análise da Quantificação dos Açúcares Redutores, ao examinar a coleta 2, o tratamento irrigado sem trealose ou trealose e seus derivados, representaram estatisticamente menor produção quando comparado com a coleta 1, devido alta concentração possivelmente resultante da germinação da semente, e posterior queda, na coleta 2 e estabilização esperada na coleta 3 devido aumento da capacidade fotossintética onde o carbono fixado foi convertido em açúcares, por meio das células fotossintéticas especializadas. (Kosar *et al.*, 2019) (Figura 05).

Figura 05 - Quantificação dos Açúcares Redutores em plantas de milho submetidas a déficit hídrico e tratadas com Trealose e os derivados sintéticos. Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

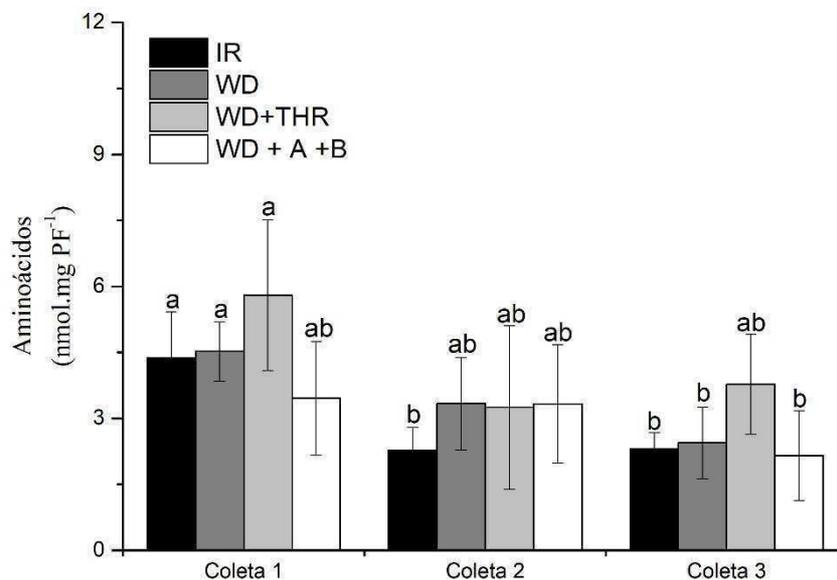


Fonte: Do autor, 2021.

Do mesmo modo, as parcelas que 12 horas antes do período de exposição ao estresse receberam o tratamento da trealose e trealose e seus derivados, demonstraram apesar do estresse imposto, o perfeito funcionamento do metabolismo primário da planta, em sua produção de açúcares redutores, considerando que o metabolismo primário das plantas, associa-se diretamente aos processos fotossintéticos, encarregado pela captação de carboidratos e envolvimento direto nos processos comuns e vitais da planta.

Ao realizamos a quantificação estatística dos Aminoácidos (aa), na coleta 1, não houve diferença estatística entre as parcelas que estiveram sob estresse hídrico, não apresentando diferença àquelas que receberam irrigação tanto somente por água como também por trealose e a mistura de trealose e seus derivados (Figura 06).

Figura 06 - Quantificação dos Aminoácidos em plantas de milho submetidas a déficit hídrico e tratadas com Trealose e os derivados sintéticos. Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

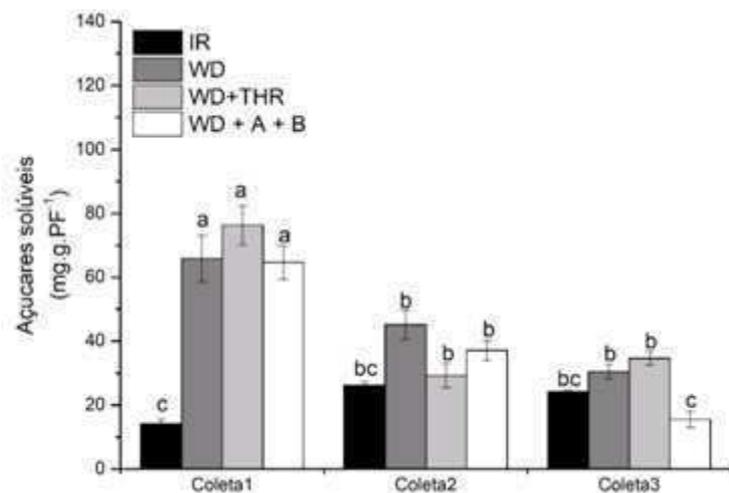


Fonte: Do autor, 2021.

Porém na coleta 1, a representação estatística de aminoácido nas parcelas tratadas com trealose foi maior, em relação as coletas 2 e 3, para o mesmo tratamento, e dada a importância dos aminoácidos por relacionarem diretamente com os metabólitos primários, e por ser constituintes das proteínas, por participarem diretamente do metabolismo e das funções fisiológicas e biológicas das plantas, e nesta análise, por não representarem dados estatísticos que comprovem a eficiência da trealose em uma planta sob estresse, mas que recebeu uma parcela de tratamento, questiona sua interferência nas proteínas, por meio da análise bromatológica deste, aqui não realizada.

Em análise estatística da quantificação dos Açúcares Solúveis, na coleta 2, não houve diferenças entre as parcelas que receberam tratamento com irrigação à base de trealose ou trealose e seus derivados, somente água e aos estressados, mesma situação ocorre ao analisar a coleta 3, onde o tratamento à base de trealose e seus derivados foram menos quantificados (Figura 07).

Figura 07 - Quantificação dos Açúcares redutores em plantas de milho submetidas a déficit hídrico e tratadas com Trealose e os derivados sintéticos. Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.



Fonte: Do autor, 2021.

Porém na coleta 1, todas as parcelas que receberam irrigação, não apresentaram diferenças estatísticas entre si, porém houve grande representação quando comparada à parcela que esteve sob o estresse hídrico, comprovadamente devido ao transporte e armazenamento de açúcares no interior da planta ser constante e controlado por inúmeros processos que visam a regulação celular, ou seja, em períodos expostos à estresse, a reserva de amido pela planta torna-se hidrolisada (açúcares solúveis-osmoregulação), para que as atividades essenciais para a sobrevivência celular sejam constantes, apesar do estresse hídrico que a planta esteja enfrentando (Secchi; Zwieniecki, 2012). Todos os seres vivos, sejam animais ou vegetais, compartilham em comum um metabolismo geral denominado metabolismo primário. O metabolismo primário tem como objetivo a síntese de compostos essenciais para a sobrevivência das espécies (De Sousa, 2010; Santos, 2001).

Ao metabolismo primário das plantas estão associados todos os processos fotossintéticos que originam a formação de ácidos carboxílicos do ciclo de Krebs, aminoácidos, hidratos de carbono, ácidos graxos, proteínas e ácidos nucléicos, todos envolvidos nos processos vitais da planta (Schaaf *et al.*, 1995).

Todo o estresse causa dano ao metabolismo vegetal, especificamente o estresse hídrico podemos tomar como comum o acúmulo ou perda de metabólitos. Entre eles estão os carboidratos, ácidos orgânicos, ácidos abscísicos (ABA), e aminoácidos, alterando a atividade de enzimas e síntese de proteínas.

O ajuste osmótico, promove o acúmulo de metabólitos primários pelas plantas expostas ao estresse hídrico, facilitando o abaixamento do potencial osmótico ante ao aumento líquido do soluto intracelular (Chaves, 1991).

Mecanismo auxiliador da planta em manter o turgor, para que a alongação celular juntamente com a expansão de regiões de crescimento, consigam ser sustentados, mesmo em condições adversas de estresse hídrico (Premachandra *et al.*, 1992).

Em análise geral, quantitativamente, observa-se, que as parcelas que receberam tratamento com trealose e com trealose e seus derivados, quando

expostos ao estresse hídrico apresentaram maior capacidade de osmoproteção e adequação metabólica para o enfrentamento do estresse.

Assim, através do estudo dos metabolitos primários, é possível seqüenciar quais processos químicos pode-se interferir para que as plantas sejam capazes de produzir inúmeros compostos orgânicos apesar de ações abióticas sofridas, desde que saibamos como trabalha cada via metabólica responsável pela sua síntese (Groenigen *et al.*, 2015). (Kabera *et al.*, 2014) referiram que os metabolitos primários possuem função estrutural, plástica e de armazenamento de energia, enquanto os metabolitos secundários, produtos secundários ou produtos naturais, aparentemente não possuem relação com o crescimento e desenvolvimento da planta.

6 CONCLUSÃO

A trealose, é uma importante opção para mitigar estresses abióticos não somente na cultura do milho, porém, neste caso o estresse hídrico permite a expansão da produção nos mais diversos cenários meteorológicos (Ashraf, 2010).

É possível que a trealose seja indicador do efeito da interação dos estresses hídricos no cultivo de cana de açúcar, por tratar-se de um osmorregulador eficiente em organismos aumentando a resistência de estresse hídrico, já que a planta é prejudicada em períodos de seca o que leva a queda da produtividade (Nicolau Jr, 2008).

A trealose substitui a água perdida em condições de estresse hídrico devido a ligação a membrana da planta, esse processo não ocorre alteração do espaçamento entre os fosfolipídios evitando assim as separações laterais dos componentes da membrana que interferem negativamente no complexo de mosaico fluido (Queiroz, 2006).

Pois o funcionamento do metabolismo primário da planta, em sua produção de açúcares redutores associa-se diretamente aos processos fotossintéticos, encarregado pela captação de carboidratos e envolvimento direto nos processos comuns e vitais da planta. O acúmulo de trealose e prolina livre nos tecidos vegetais é um mecanismo de osmoproteção de genótipos tolerantes a seca (Queiroz, 2006).

No presente estudo comprovamos que a trealose e seus derivados controlam a capacidade de osmorregulação das plantas, aumentando a resistência do estresse hídrico nas plantas, especialmente nas plantas utilizadas no estudo. Ajuda na produção de açúcares redutores, mas não encontramos diferenças significativas nas taxas de aminoácidos e açúcares solúveis, necessitando assim mais estudos para ter resultados assertivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O.; LENG, E.R. **Modern corn production**. Champaign: A & L Publication, USA,1982.
- ALMEIDA, D.F.L.S. **Estudo das Vias Metabólicas das Plantas na Síntese de Pigmentos Naturais**. Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2017. (Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Disponível em https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/6104/1/PPG_26189.pdf - Acesso em 13 Mar.2021.
- ANGHINONI, I. **Adubação nitrogenada nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. In:SANTANA, M.B.M. Adubação nitrogenada no Brasil. Ilhéus, 2011: CEPLAC/SBCS. Cap.I. p.1-18.
- ARGENATA, G. *et al.* **Paramêtros de planta como indicadores do nível de nitrogênio na cultura do milho**. P.A.B - Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 2006.
- ASHARAF, M. **Inducing drought tolerance in plants: recent advances**. Biotechnology Advances, Oxford, 2010, v. 28, p. 199-238.
- BELTRÃO, N. E. M.; FILHO, F. J.; FIGUEIRÊDO, I. C. de M. Uso adequado de casa de vegetação e de telados na experimentação agrícola. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, 2002.
- BERG, J. M. *et.* **The Calvin cycle synthesizes hexoses from carbon dioxide and water**. In: Biochemistry. New York. Freeman. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22344/>. Acesso em 06 Out. 2019.
- BERGONCI, J.I.; BERGAMASCHI, H. Ecofisiologia do milho. In: **CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO**. ABMS/EMBRAPA/EPAGRI,Florianópolis, 2002.
- BERNARDO, S. *et al.* **Manual de Irrigação**. 8.ed. Viçosa: UFV, 2006, 625p.
- BONFIM-SILVA, E. M. *et al.* Desenvolvimento inicial de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. **Revista Caatinga**, v. 24, p. 180-186, Universidade Federal Rural do Semiárido, Rondonópolis, 2011.
- BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M.**Regulação Da Absorção E Assimilação Do Nitrogênio Nas Plantas**. Ciência Rural, Santa Maria, 2000.
- CARLIN, S. D. *et al.* Efeito **simultâneo da deficiência hídrica e do alumínio tóxico no solo na cultivar IAC91-5155 de cana-de-açúcar**. Seminário: Ciências Agrárias, p. 553-563, UNESP-Jaboticabal, 2012.
- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v.1 - Safra 2019/2020, n.6 - Sexto Levantamento, Brasília, p.1-83, mar.2021.

CONRADO, D. *et al.* **Vulnerabilidade as mudanças climáticas**. Accelerating the world's research. Disponível em: https://iieb.org.br/wp-content/uploads/2019/01/artigo_vulnerabilidades.pdf. Acesso em 15 Set.2021.

COSTA, J. R. Produção de matéria seca de cultivares de milho sob diferentes níveis de estresse hídrico. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**. Campina Grande, 2008.

CRUZ, J. C.; QUEIROZ, L. R; PEREIRA FILHO I. A. **Milho – Cultivares: Quatrocentas e sessenta e sete cultivares de milho estão disponíveis no mercado de sementes do Brasil para a safra 2013/14**. Disponível em www.embrapa.com.br. : Acesso em: 19 jul. 2021.

CRUZ, J. C. *et al.* **Cultivo do milho**. EMBRAPA milho e sorgo. 6 edição, Sete Lagoas. 2010.

DURÃES, F.O.M., MAGALHÃES, P.C.; OLIVEIRA, A.C.de. Índice de colheita genético e as possibilidades da genética fisiológica para melhoramento do rendimento de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.1, n.1, p.33-40, Sete Lagoas, 2002.

EHLERINGER, J. R. *et al.* **C4 photosynthesis, atmospheric CO₂, and climate**. O ecologia, Berlin, 1997.

FREIRE,T.,L.G. – **Análise mensal do milho-2019** - JAN 2020. - CONAB - Analista de Mercado. Acesso em 10 Dez. 2021.

FAGERIA, N. K. **Solos tropicais e aspectos fisiológicos das culturas**. Brasília, DF; EMBRAPA-DPU, 1989.245 p.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Ecofisiologia e fenologia**. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. Produção De Milho. Guaíba: Agropecuária, 2000. p. 21-54.

FERNANDES, F. C.S. Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira De Milho E Sorgo**, Sete Lagoas, 2005.

FLOSS, E. L. **Fisiologia das plantas cultivadas: o estudo do que está por trás do que se vê**. 3. ed. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2006.

GLÓRIA, M. B. A. Bioactive amines.In: HUI, H., SHERKAT, F. (Eds). **Hand book of food science, technology and engineering**. London: CRC Press.; 2005, 3632 p.

GRZYBOWSKI, C. R. S. *et al.* Stress testing in the evaluation of vigour in maize e ed. ISSN 1806-6690. **Revista Ciência Agrônômica**, Sete Lagoas, 2015.

HARTTERSLEY, P. W. **Characterization of C4 type leaf anatomy in grasses (Poaceae)**. Mesophyll: bundle sheath area ratios. *Annals of Botany*, London, v. 53, n.6, p. 163-179, 1984.

HOPKINS, W.G. **Introduction to plant physiology**. New York, John Wiley & Sons, 1995, 464 p. KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Ed. Guanabara Koogan. 2004. 452 p.

KAPPES, C. *et al.* **Análise econômica do milho em sucessão a diferentes adubos verdes, manejos do solo e doses de nitrogênio**. Biosci. J., Uberlândia, 2015.

KLAR, S. R. **A água no sistema solo-planta-atmosfera**. São Paulo: Nobel, 1984.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Tradução de: Carlos Henrique Britto de Assis Prado. São Carlos: RiMa, 2004. 531p.

LISA M. M., ANNE W. P., BRENT F. P., CLAIRE D. O., KATHERINE S. B., PETER J. W., BENJAMIN M. S., **Rapid one-step enzymatic synthesis and all-aqueous purification of trehalose analogues**. Departamento de Química e Bioquímica, Central Michigan University, Departamento de Química, University of Southern Maine, 2017.

MACHADO, C. T. T.; PARTENIANI, M. L. S. **Origem, domesticação e difusão**. In: SOARES, A. D.; MACHADO, A. T.; SILVA, B. M.; WEID, J. M. (organizadores). **Milho crioulo: conservação e uso da biodiversidade**. Rede Projetos Tecnologias Alternativas. Rio de Janeiro. 1998

MAGALHÃES, P. C. *et al.* **Avaliação de Características Ecofisiológicas em Linhagens de Milho Submetidas ao Estresse Hídrico**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS- Circular Técnica 22, 1994.

MAGALHÃES, P. C. *et al.* **Fisiologia da planta de milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS- Circular Técnica 20, 1994.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. M. O. **Fisiologia da cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS- Circular Técnica 28, 1994.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F.O.M.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1995. 27 p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 22).

MAGALHÃES, P.C.; JONES, R. **Aumento de fotoassimilados sobre os teores de carboidratos e nitrogênio em milho**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 1990.

MALDANER, L. J. Exigência agroclimática da cultura do milho (Zeamays). **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, UFPR. 2014.

MAJEROWICS, N. Fotossíntese. In KERBAUY, G.B. **Filosofia vegetal**. 1.ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2004. p. 114-178

MAPA-Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Zoneamento agrícola de risco climático, 2019**. Disponível em: www.gov.br. Acessado em 25 Abr de 2021.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. 3ªed. Editora UFV, Viçosa. , 2009.

MARTIN-TANGUY, J. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant Growth Regul.* **Revista Ceres**, Viçosa, v.68, n.1, p. 055-060, jan/feb, 2001.

MATSUMOTO, K. Giberelinas. In: CID, L.P.B. Introdução aos hormônios vegetais. Brasília: EMBRAPA. **Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Sete Lagoas, 2000.

MAYER, M. J.; MICHAEL, A. J. **Polyamine homeostasis in transgenic plants over expressin gornithinede carboxylase includes ornithine limitation**. *J. Biochem.* (Tokyo), 134: 765–772, 2003.

MORIZET, J.; TOGOLA, D. **Effect et arrière-effect de la sécheresse sur la croissance de plusieurs génotypes de maïs**. In: CONFÉRENCE INTERNATIONALE DES IRRIGATIONS ET DU DRAINAGE, 1984, Versailles. Les besoins en eau des cultures Paris: Inra, 1984. p.351-360.

OLIVEIRA, M. S. N., **Síntese e caracterização de complexos envolvendo poliaminas e os íons metálicos zinco (II), níquel (II) e paládio (II)**. PUC. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2010.

PAES, M. C. D. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2006.

PETRY, C. **Adaptação de cultivares de soja a deficiência hídrica no solo**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul. Santa Maria. 1991.

REETS, H. F., GARCIA, Gustavo Luiz. **Produção de forragem de azevem (*Lolium multiflorum*) com diferentes fontes de adubação fosfatada**. Dissertação mestrado. Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, 2021.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit Hídrico e os Processos Morfológico e Fisiológico Das Plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.2, n.3, p.287-294, 1998 Campina Grande, PB, DEAg/UFPB. 1998.

SCHUSSLER, R.J.; WESTGATE, M.E. Maize kernel set at low potential. I. Sensivity to reduced assimilates during early kernel growth. **Crop Science**, v.31, p.1189-1195, 1991.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. – Porto Alegre: Artmed, 2017.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

UZUN, Ana Cristina de Souza Brito. Com potencial de um país, MS é o 14º maior produtor de milho do mundo. **Portal do Governo de Mato Grosso do Sul**, [Mato Grosso do Sul], 22/setembro/2020 5:46 am, Agricultura. Disponível em: <http://www.ms.gov.br/com-potencial-de-um-pais-ms-e-o-14o-maior-produtor-de-milho-do-mundo/>. Acesso em: 28 dez. 2020.

WAGNER, M. V. **Características hidro-climáticas para a cultura do milho em Guarapuava-PR**. Guarapuava, 2009. 91 p. Dissertação Mestrado - Universidade Estadual do Centro-Oeste, 2009.

VILELA, E.F.; BULL, L. T. Avaliação do crescimento de plantas de milho em função de doses de potássio e estresse hídrico. **Revista Brasileira do Solo**, Sete Lagoas. 1999.

WESTGATE, M.E.; BOYER, J.S. Carbohydrate reserves and reproductive development at low leaf water potentials in maize. **Crop Science**, v.25, p.762-769, 1985.

WILSON, J.H. *et al.* **Grow thandyield of maize at different altitudes in Rhodesia**. Annals of Applied Biology, Cambridge, 1973.

ZINSELMEIER, C.; WESTGATE, M.E.; JONES, R.J. Kernel set at low water potential does not vary with source sink/ratio in maize. **Crop Science**, v.35, p.158-164, 1995.