

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**

**Instituto de Ciências Agrárias – ICA**

**Arlesson William da Silva**

**TRATAMENTO DE SEMNETES DE SOJA COM PROLINA E BIOCHAR VISANDO  
A MITIGAÇÃO DE ESTRESSE HÍDRICO**

**Unai**

**2024**

**Arlesson Wilhiam da Silva**

**TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA COM PROLINA E BIOCHAR VISANDO  
A MITIGAÇÃO DO ESTRESSE HÍDRICO**

Monografia apresentada ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Engenheiro (a) Agrônomo (a).

Orientador: Prof. Dr. Anderson Barbosa Evaristo

**Unai**

**2024**

**Arlesson Wilhiam da Silva**

**TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA COM PROLINA E BIOCHAR VISANDO  
A MITIGAÇÃO DE ESTRESSE HÍDRICO**

Monografia apresentada ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Engenheiro (a) Agrônomo (a).

Orientador: Prof. Dr. Anderson Barbosa Evaristo

Data de aprovação 25/06/2024.

---

Prof. Dr. Anderson Barbosa Evaristo  
Instituto de Ciências Agrárias - UFVJM

---

Prof. Dr. Leonardo Barros Dobbss  
Instituto de Ciências Agrárias - UFVJM

---

Prof. Dra. Tânia Pires da Silva  
Instituto de Ciências Agrárias - UFVJM

**Unai**

**2024**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, quero agradecer a Deus, pela conclusão deste Trabalho de Conclusão de Curso, pela oportunidade de realizar o curso que sempre desejei fazer.

Ao meus pais, Juverci e Maria Elizabth, que sempre estiveram me apoiando e incentivando, dando sempre o apoio necessário. A minha irmã Leidiane e minha tia Maria Anis, que sempre estiveram junto me apoiando.

Aos meus amigos, que ajudaram na execução deste trabalho, e não mediram esforços para que ele fosse realizado.

Ao meu orientador Anderson Barbosa Evaristo, que me incentivou na realização deste trabalho, pelas orientações e ensinamentos, que com certeza me tornaram um profissional melhor.

## RESUMO

O estresse hídrico é um dos principais fatores limitantes para a produtividade da cultura da soja. As mudanças climáticas vêm alterando os regimes pluviométricos, gerando estresse na maioria dos cultivos, seja por falta ou excesso de água. O uso de aminoácidos como a prolina é uma das estratégias que estão sendo utilizadas para reduzir o estresse por falta de água, assim como, a utilização dos bioinsumos como o biochar que também estão sendo testados com a mesma finalidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso da prolina e biochar em tratamento de sementes para mitigação de estresse hídrico em plântulas de soja. O trabalho foi conduzido em casa de vegetação, na fazenda experimental Santa Paula (FESP), no Instituto de Ciências Agrárias da UFVJM, Campus Unai. Os experimentos foram conduzidos em delineamento de blocos casualizados (DBC), divididos em duas etapas, a primeira etapa consistiu em avaliar as melhores concentrações respostas para a prolina (0, 2, 5, 9, 15 e 20 mg / g de semente) e biochar (0, 193, 362, e 468 miligramas / g de semente) com 40% e 60 % da capacidade de retenção do substrato. A segunda consistiu em avaliar as melhores concentrações sob condições de diferentes status hídrico, com 34% e 68 % da umidade de saturação do substrato, com novas concentrações de prolina (0 e 11 mg / g de semente) e biochar (0, 250 e 460 mg / g de semente). Foram avaliadas as variáveis altura de plantas, comprimento da raiz, número de nódulos, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e massa seca de nódulos. A melhor concentração de prolina encontrada foi de 11 mg/ g de semente, enquanto, que para o biochar não foram observadas variações significativas nas concentrações testadas. A associação da prolina + biochar e seus usos isolados nas concentrações estudadas não promoveram acréscimos nos parâmetros de crescimento de plântulas e de nódulos nas raízes das plântulas de soja. A restrição hídrica limitou o crescimento, produção, número e massa de nódulos nas plântulas de soja.

**Palavras-chave:** *Glycine max*; bioinsumo; estresse abiótico; inovação; aminoácidos.

## ABSTRACT

Water stress is one of the main limiting factors for soybean crop productivity. Climate change has been altering rainfall regimes, generating stress on most crops, whether due to lack or excess of water. The use of amino acids such as proline is one of the strategies being used to reduce stress due to lack of water, as well as the use of bio-inputs such as biochar, which are also being tested for the same purpose. The objective of this work was to evaluate the use of proline and biochar in seed treatments to mitigate water stress in soybean seedlings. The work was carried out in a greenhouse, on the Santa Paula experimental farm (FESP), at the Institute of Agricultural Sciences at UFVJM, Campus Unaí. The experiments were conducted in a randomized block design (DBC), divided into two stages, the first stage consisted of evaluating the best response concentrations for proline (0, 2, 5, 9, 15 and 20 mg/g of seed) and biochar (0, 193, 362, and 468 milligrams/g seed) with 40% and 60% substrate retention capacity. The second consisted of evaluating the best concentrations under conditions of different water status, with 34% and 68% of the saturation humidity of the substrate, with new concentrations of proline (0 and 11 mg/g of seed) and biochar (0, 250 and 460 mg/g seed). The variables plant height, root length, number of nodules, dry mass of the shoot, dry mass of the root and dry mass of nodules were evaluated. The best concentration of proline found was 11 mg/g of seed, while for biochar no significant variations were observed in the concentrations tested. The association of proline + biochar and its isolated uses in the concentrations studied did not promote increases in the parameters of seedling growth and nodules on the roots of soybean seedlings. Water restriction limited the growth, production, number and mass of nodules in soybean seedlings.

**Keywords:** Glycine max; bioinput; abiotic stress; innovation; amino acids.

## SUMÁRIO

<b>1.0</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	7
<b>2.0</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	8
2.1	OBJETIVO GERAL .....	8
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	8
<b>3.0</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	8
3.1	CULTURA DA SOJA.....	8
3.2	ESTRESSE EM PLANTAS .....	9
3.3	PROLINA .....	10
3.4	BIOINSUMOS .....	12
<b>4.0</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	13
4.1	Produção do biochar.....	13
4.2	Experimento I- Ensaio de concentração - resposta de prolina e biochar em tratamento de sementes de soja.....	14
4.2.1	Determinação da curva de concentração resposta da prolina .....	14
4.2.2	Determinação da curva de concentração resposta do biochar .....	14
4.3	Experimento II – Associação de prolina e biochar em diferentes condições hídricas do substrato .....	16
<b>5.0</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	18
<b>6.0</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	23
<b>7.0</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	25
<b>8.0</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	26
	ANEXOS.....	32

## 1.0 INTRODUÇÃO

Estresse pode ser entendido como um desvio significativo nas condições normais de um meio, que tende a dificultar o estabelecimento e desenvolvimento de determinado organismo, resultando então em mudanças. Estresse em plantas pode ser classificado como bióticos, causados por organismos vivos ou abióticos, como temperatura, salinidade, irradiação e deficiência ou excesso hídrico.

A deficiência hídrica ou estresse hídrico é a falta de água no solo ou substrato de cultivo, afetando os processos de germinação da semente, o crescimento e desenvolvimento das plantas. O déficit hídrico é comumente observado no período de seca, quando a água presente no solo não é suficiente e o sistema radicular não consegue absorvê-la, se essa condição permanecer por longos períodos, pode acarretar na morte da planta. A limitação hídrica limita a manutenção de processos cruciais à sobrevivência, limitando o máximo potencial produtivo (ANSARI *et al.*, 2019; CONTI *et al.*, 2019).

A água é o principal recurso para a vida na terra, indispensável para diversas atividades humanas, dentre elas o cultivo de vegetais e grãos, atuando em diversos processos fisiológicos, entre eles o processo fotoquímico da fotossíntese e absorção de nutrientes. Representa de 90 a 95% da biomassa verde de plantas, importante para a manutenção de tecidos, células e organismos (SELEIMANET *et al.*, 2021).

As mudanças climáticas vêm afetando as formas de cultivo e as culturas cultivadas em todo o planeta, trazendo perdas econômicas e sociais. Alterações nos regimes pluviométricos e altas temperaturas são exemplos de modificações climáticas que afetam de maneira significativa a agricultura, diminuindo a produção e a qualidade dos alimentos cultivados (DIAS, 2023).

Estratégias estão sendo elaboradas para atenuar os impactos do aquecimento global na agricultura, dentre elas: o uso de sistemas de irrigação, novos sistemas de produção agrícola, desenvolvimento de cultivares com tolerância à seca e altas temperaturas, insumos para atenuar os efeitos causados por estresse abióticos, dentre outros.

Dentre os insumos agrícolas, destacam-se os bioinsumos, como o biochar ou biocarvão comumente utilizado em culturas anuais, proporcionando aumento na produtividade e incremento nas características fitotécnicas. O biochar é um subproduto ou resíduo da produção

vegetal, resultado da pirolise de material vegetal, que apresenta característica porosa, retenção de água e nutrientes, aumentando a aeração e sequestrando carbono. O uso destes bioinsumos estão sendo realizados de forma isolada, ou associados com microrganismos e aminoácidos.

Já os aminoácidos, especificamente a prolina, pode amenizar os efeitos do estresse hídrico, por atuar na destruição das espécies reativas de oxigênio, controle osmótico, ativando rotas metabólicas e enzimas da via biosintética (MEENA *et al.*, 2019). Seu uso vem sendo explorado em várias culturas como a soja, feijão, tabaco, tomate e outras. Teixeira *et al.* (2019) relatam maior matéria seca da raiz e maior nodulação em plantas com estresse hídrico moderado em plantas submetidas ao tratamento de semente e aplicação foliar de prolina, quando comparadas com plantas em estresse hídrico severo.

Estudos estão sendo realizados, avaliando a aplicação exógena em soja submetidas a tratamento em sementes ou aplicações foliares de prolina, em condição de ausência de estresse a estresse hídrico moderado. Nesse sentido esta pesquisa tem como hipótese que o uso de prolina, biochar e sua associação em tratamento de sementes pode atenuar os efeitos do estresse hídrico no desenvolvimento inicial de plântulas de soja.

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar desempenho de plântulas de soja, tratadas com uso da prolina e biochar em tratamento de sementes para mitigação de estresse hídrico.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- i. Avaliar o crescimento de plântulas de soja tratada com prolina e biochar sob estresse hídrico.
- ii. Quantificar a eficiência da nodulação nas raízes de soja sob estresse hídrico em sementes tratadas com prolina e biochar.

## **3.0 REVISÃO DE LITERATURA**

### **3.1 CULTURA DA SOJA**

É uma planta com origem no continente asiático, que pertence à família Fabaceae, com ciclo anual, herbácea, ereta, com duração de ciclo variável a depender das condições ambientais e características da cultivar (NEPOMUCENO; FARIAS; NEUMAIER, 2021).

A soja (*Glycini max* L.) é atualmente a cultura mais cultivada no Brasil com 41.141.725 hectares, com rendimento médio de 2951 kg/ha e 41,6 % de participação no valor total da

produção nacional no ano de 2022, sendo Mato Grosso o estado com a maior produção (IBGE, 2022).

A soja é a matéria prima base para a produção de óleos, lubrificantes industriais, biocombustíveis tinta para impressão em gráfica, polímeros, usos na indústria de cosméticos, rações animais, pneus, dentre outros.

O cultivo dessa oleaginosa vem passando por várias transformações desde sua introdução. O melhoramento genético e os eventos de transgenia impulsionaram o cultivo da soja em todo o território nacional (VOLPATO, 2016), contribuindo para que hoje o Brasil se tornasse o maior produtor e exportador de soja no mundo.

Entretanto Sentelhas *et al* (2015) definem fatores determinantes da produtividade, aqueles relacionados com as condições ambientais (radiação solar, temperatura e fotoperíodo) e com a cultura (genótipo e arranjo de plantas). Época de semeadura, cultivar e arranjo de plantas estão, portanto, relacionados, como fatores determinantes no manejo.

### 3.2 ESTRESSE EM PLANTAS

Perturbações no ambiente, sejam de natureza biótica ou abiótica, comprometem a sobrevivência de plantas que estão constantemente expostas (HOSSAIN *et al.*, 2017). Segundo Dresselhaus; Huckelhoven (2018), os estresses abióticos são os principais problemas ambientais, que influenciam negativamente o crescimento e desenvolvimento de plantas. Uma das respostas que as plantas apresentam sob estresse é a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que quando produzidas e acumuladas na planta, causam desequilíbrio redox, deterioração de componentes fotossintéticos, inativação de proteínas e enzimas, destruição da estrutura e permeabilidade da membrana celular, podendo causar a morte celular (YOUSUF,2016).

Apresentando de 80% a 95 % da composição da biomassa verde de plantas, é fundamental na constituição do tecido vegetal e de extrema importância para a manutenção da atividade celular (SELEIMAN *et al.*, 2021). Taiz *et al.*, 2017 definem a disponibilidade de água como um limitante importante para o estabelecimento, crescimento e desenvolvimento de plantas.

O déficit hídrico ocasionado pela baixa disponibilidade de água, ocorre quando a planta não pode ser satisfeita em sua totalidade, considerando sua necessidade hídrica, situação que ocorre quando a quantidade de água transpirada excede a quantidade absorvida, resultado de

baixas precipitações, abaixamento do lençol freático ou retenção pelas partículas de solo (KAPOOR *et al.*, 2020).

Plantas sob estresse hídrico, buscam neutralizar a perda de água preservando seu estado hídrico (KAPOOR *et al.*, 2020), se ajustando morfoanatômicamente, fisiologicamente e bioquimicamente (HUSSAIN *et al.*, 2019), fechando estômatos, reduzindo a taxa transpiratória, o suprimento de CO<sub>2</sub>, aumentando a resistência ao vapor de água, o que inevitavelmente ocasiona a redução da biomassa seca (ARANTES *et al.*, 2020).

Segundo Cui, 2021 existe diferença na resposta de diferentes espécies de plantas sob estresse hídrico, que variam entre espécies, especialmente no mecanismo de fixação de CO<sub>2</sub>, (C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>). Plantas C<sub>4</sub> são mais eficientes no uso da água, e, portanto, possuem maior tolerância à deficiência hídrica, mesmo em ambientes com temperaturas elevadas (SONMEZ *et al.*, 2022).

Sob condições desfavoráveis, com reduzida ou pouca fotorrespiração das espécies C<sub>4</sub>, as plantas conseguem vantagem adaptativa em relação as C<sub>3</sub>, mais sensíveis à seca (YAMORI *et al.*, 2014; SONMEZ *et al.*, 2022). No entanto espécies com metabolismo C<sub>3</sub> possuem uma maior tendência de apresentar maior plasticidade fenotípica da fotossíntese, comparadas às espécies C<sub>4</sub>, contribuindo para a redução na distribuição geográfica e ecológica das espécies C<sub>3</sub> em comparação às C<sub>4</sub> (ARANTES *et al.*, 2020; CUI, 2021).

### 3.3 PROLINA

Plantas expostas a algum tipo de estresse desenvolvem adaptações fenotípicas e fisiológicas em resposta ao estresse. A síntese e acúmulo de solutos orgânicos, designados como osmoprotetores ou solutos compatíveis, assim como a prolina, glicina betaína, açúcares entre outros, é um exemplo de resposta (SZABABOS; SAUVORÉ, 2010; GOLLDACK *et al.*, 2014; KHAN; ASGHER; KHAN, 2014). Atuam como moduladores fisiológicos na via de sinalização dos processos de desenvolvimento e defesa contra estresse bióticos e abióticos.

A aplicação de aminoácidos, não tem por objetivo suprir os blocos para realização de síntese proteica, atua ativando o metabolismo fisiológico das plantas, com ação antiestressante (TEIXEIRA *et al.*, 2017; ALFONSEA-SIMÓN *et al.*, 2020). Em sua grande maioria, os aminoácidos estão sendo utilizados como complexos, não de forma isolada, não apresentando quantidades definidas, assim como acontece no caso de fertilizantes minerais, que podem ser ajustados de acordo com a necessidade da cultura (YAKHIN *et al.*, 2017; ALFOSEA-SIMÓN *et al.*, 2020).

A prolina é um aminoácido constituinte das proteínas, importante nas respostas fisiológicas envolvendo a proteção contra o estresse e controle redox, diminuindo os efeitos das espécies reativas de oxigênio (EROS) e da relação NAD(P)<sup>+</sup>/NAD(P)H. Regula o ajuste osmótico, funcionando como uma chaperona molecular preservando a integridade de proteínas e enzimas, agindo como um soluto, garantindo que o citoplasma permaneça hidratado, mesmo em situação de osmolaridade extrema (FICHMAN *et al.*, 2015).

A maioria dos mecanismos reguladores do metabolismo da prolina age a nível transcricional e consegue distinguir entre as condições fisiológicas normais e estresse. O sucesso para essa distinção é a capacidade de detectar e responder a diferentes entradas por varias vias de sinalização que resultam na expressão ou ativação de fatores de transcrição específicos (FICHMAN *et al.*, 2015).

Em pesquisas com a aplicação de L-prolina na cultura do tomate quando submetida a condições de estresse térmico, plantas que receberam tratamentos apresentaram incrementos na produtividade total, produtividade comercial e na produção de frutos classificados como grandes (TONHATI, 2016). Nessa mesma cultura, Kahlaoui *et al.* (2015) obtiveram resultados que corroboram com o observado, no qual foi encontrado maior concentração de prolina no cultivar tolerante a condição de estresse salino em comparação com a não tolerante.

A prolina é um antioxidante que atua interagindo com diversas enzimas, preservando e auxiliando a atividade de proteínas, podendo estar envolvida na regulação de genes que atuam na biossíntese da clorofila (EL-BETALGI, MOHAMED e SOFY, 2020). A prolina é um osmorregulador vital nas plantas, sendo distribuída por transporte de longa distância ao longo dos feixes vasculares e localmente é transportada através da membrana plasmática ou dos plasmodesmas (Per *et al.*, 2017)

Em plantas, a biossíntese de prolina ocorre no citosol através de duas vias: glutamato e ornitina (REJEB; ABDELLY; SAVOURÉ, 2014). Na via glutamato, a biossíntese de prolina tem início com a fosforilação do glutamato para a forma  $\gamma$ -glutamil fosfato pela enzima  $\gamma$ -glutamil quinase, que é reduzido a glutamato semialdeído (GSA) pela ação da enzima  $\Delta^1$ -pirrolina-5-carboxilato sintetase (P5CS), utilizando NADPH, formando espontaneamente pirrolina-5-carboxilato (P5C). Este P5C é reduzido a prolina pela catalise enzimática da  $\Delta^1$ -pirrolina-5-carboxilato redutase (P5CR) consumindo NAD(P)H. Na via ornitina, a enzima ornitina aminotransferase (OAT) catalisa a reação da ornitina em GSA, e posteriormente, é convertido em prolina pela via P5C (SZABADOS; SAUVORÉ, 2010).

Já o catabolismo da prolina ocorre nas mitocôndrias e é realizado por duas enzimas. A prolina desidrogenase (ProDH) catalisa a conversão de prolina em P5C, utilizando  $FAD^+$  como cofator. P5C é então convertido a glutamato pela  $\Delta^1$ -pirrolina-5-carboxilato desidrogenase (P5CDH), usando preferencialmente  $NAD^+$ , mas também pode consumir  $NADP^+$  (FICHMAN *et al.*, 2015). O glutamato pode ser exportado ou convertido dentro das mitocôndrias em  $\alpha$ -cetogluturato pela enzima glutamato desidrogenase.

Por fim, o  $\alpha$ -cetogluturato pode ser induzido no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) e, dessa forma, a prolina representa um substrato para a cadeia respiratória (SCHERTL *et al.*, 2014). Pela via da ornitina, o P5C formado a partir da ação do ProDH é convertido em ornitina pela ação da OAT. A ornitina é direcionada para formação de arginina para ser introduzida no ciclo da ureia (SZABADOS; SAUVORÉ, 2010).

### 3.4 BIOINSUMOS

Segundo Serra *et al.* (2016) o sucesso do Brasil no setor agropecuário nas últimas décadas foi resultado do desenvolvimento de plantas resistentes a diferentes tipos de pragas e doenças, eficiência nutricional, dentre outras, atrelados a utilização de agrotóxicos, fertilizantes, implementos e máquinas agrícolas, que aumentaram significativamente a produção agrícola, utilizando o potencial dos recursos naturais. Entretanto, esse modelo vem sendo fortemente criticado por sua dependência a essas tecnologias, que ditam toda a cadeia produtiva, agravando questões ambientais, sanitárias, sociais e econômicas (PINTO, 2018; SERRA *et al.* 2016).

Produtos de origem biológica, que promovem o desenvolvimento vegetal, por ação de microrganismos, auxiliando o sistema, surgiram como uma alternativa para esses problemas, através das indústrias de bioinsumos. No Brasil, considera-se bioinsumos todos os produtos, métodos e tecnologias de origem majoritariamente orgânica, que são capazes de beneficiar os processos da cadeia impactando positivamente todos os atores integrados ao sistema produtivo - desde o solo, a planta, a água, animais, microrganismos, etc. (BRASIL, 2020). Resíduos de excrementos de animais, cobertura vegetal morta, restos de animais, dentre outros, são resíduos da produção agropecuária, utilizados como bioinsumos (EMBRAPA, 2021).

O biocarvão ou biochar é um material sólido formado durante a decomposição térmica de biomassa, obtido através da sua carbonização. Tem como elemento principal o Carbono, contendo também Hidrogênio (H), Oxigênio (O), cinzas e traços de Nitrogênio (N) e Enxofre (S). Segundo Liu *et al.*, 2015 sua composição varia de acordo com o material de origem e as características principais do processo de carbonização.

De estrutura carbonácea arranjadas o biocarvão possui forma desorganizada, com anéis aromáticos ligados de forma aleatória, apresentando grande área superficial, estrutura porosa, grupos funcionais em sua superfície e elevado teor de minerais (CHA *et al.*, 2016). Pode ser obtido por diferentes processos de carbonização, entre eles a pirólise lenta, gaseificação, carbonização e outros.

Por apresentar boa estabilidade e alta porosidade, quando usado no solo, apresenta potencial, para a longo prazo aumentar a capacidade de retenção de água no solo. Quando comparado à matéria prima de origem, suas cinzas são fonte de fósforo, potássio e outros elementos, encontrados de forma mais solúvel e acessível. Sohi *et al.*, (2010) destaca que a disponibilidade destes elementos explica os impactos da produção de culturas a curto prazo, pois alguns deles não são disponibilizados apenas pelo aumento da quantidade de matéria orgânica presente no solo.

Nóbrega (2011) relata possíveis benefícios que o bichar oferece para a fertilidade do solo, como à resposta de água no solo, agregação, arejamento, permeabilidade, elasticidade, bem como respostas a mudanças de temperatura, retenção de cátions. Maia (2010b) em seus estudo sobre a relação do biochar com o ambiente, observou grande potencial como sequestrador de carbono, observando também que o bichar promove alterações química e biológicas na estrutura original do solo, mesmo sendo considerado um material inerte, gerando grupos funcionais iônicos , aumentando sua importância no complexo de troca iônica no solo.

## **4.0 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Produção do biochar**

Para a condução deste experimento foi utilizado o biochar produzido no laboratório da EMBRAPA BIOENERGIA com unidade em Brasília. O biochar é um coproduto de macaúba obtidos na APP (área de planta piloto) na Embrapa Agroenergia, através do endocarpo. O endocarpo in natura é um subproduto do processo de produção do óleo de macaúba, sendo submetido a uma triagem visual, em busca de elementos estranhos, e limpeza com ar comprimido de forma a retirar resíduos de terra, principalmente.

Para a produção do biochar foi realizado um processo termoquímico na planta piloto de pirólise e gaseificação (Modelo PRGS1104 ®, PID Engtech), os resíduos já processados com até 85% de umidade foram alocados no leito do reator. O resíduo passou por dois estágios sequenciais, o de pré-aquecimento por 30 min. e o de inertização (processo para a proteção

contra explosão) do leito com nitrogênio (10 L<sup>2</sup>) por 60 min, após iniciou um terceiro estágio que é o processo de carbonização (pirólise).

Sequencialmente ao processo de carbonização, sem a presença de nitrogênio, iniciou-se o processo de evaporação e gaseificação pela ingestão de 1,80 kg de água destilada com cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (7,5 mL/min) no material carbonáceo presente no leito, pelo período de 4 horas à 750°C. Após, o material produzido passou pelas etapas de resfriamento, peneiramento, lavagem, secagem, polimento, separação granulométrica e embalagem.

#### 4.2 Experimento I- Ensaio de concentração - resposta de prolina e biochar em tratamento de sementes de soja

##### 4.2.1 Determinação da curva de concentração resposta da prolina

Foi conduzido em casa de vegetação um experimento em DBC, para prolina um delineamento 6x2, sendo 6 tratamentos com concentrações de prolina (0, 2, 5, 9, 15 e 20 mg/g de semente) e duas condições de restrição hídrica (40% e 60%) da capacidade de retenção com quatro repetições. Para a aplicação de prolina exógena, foi feita uma solução estoque, contendo 5 ml de água destilada e 1 grama (1000 miligramas) de produto comercial Prolina-I reagente P.A da empresa ACS científica, de concentração mínima de 98.5% e peso molecular 115,13 g/mol<sup>-1</sup>.

Para condução do experimento foram tratadas 20 gramas de semente de soja da cultivar NS8440 por tratamento. As sementes foram pesadas em balança analítica de precisão, colocadas em béquer de 100ml, onde receberam as concentrações estimadas para cada teste no tratamento de sementes e secadas naturalmente ao ar livre.

##### 4.2.2 Determinação da curva de concentração resposta do biochar

Foi feito um delineamento 4x2, sendo 4 concentrações de biochar (0, 193, 362 e 468 miligramas/ grama de semente), e duas condições de restrição hídrica (40 e 60%) da capacidade de retenção com quatro repetições. Para adesão das concentrações de biochar nas sementes de soja, foi utilizada cola de papel com composição a base de dispersão aquosa de poli (acetato de vinila), nas concentrações 0; 0,13; 0,26 e 0,33 ml/grama de semente para as concentrações de 0; 193; 362 e 468 miligramas/ grama de semente nos tratamentos com o biochar, respectivamente.

Foram pesadas 20 gramas de semente em balança analítica de precisão, em seguidas colocadas em bquer de 100ml, adicionando o volume necessário para adesão da concentração teste, homogeneizando a cola com as sementes e em seguida adicionada a concentração de biochar, homogeneizando novamente a amostra e em seguida deixado secar ao ar livre.

A sementes de soja foram semeadas em sacos de polipropileno contendo 2.5 kg de areia, cada um contendo 10 sementes. Os sacos foram acondicionados em bandejas com dimensões 70 x 30 x 08 centímetros (comprimento, largura e altura respectivamente). As plântulas foram conduzidas em casa de vegetação no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (ICA – UFVJM), com duas condições hídricas 60% e 40% da capacidade da retenção de água para areia, segundo o manual de regras de análise de sementes (RAS).

A determinação da capacidade retenção de água da areia foi feita usando 100 gramas de areia, colocadas sobre um filtro de papel em um funil, sobre uma proveta graduada, em seguida adicionados 80 ml de água até a completa saturação da amostra, após 15 minutos foi observado que o volume de água drenado foi de 50 ml, portanto a capacidade de retenção de água da amostra foi de 30 ml de água para 100 gramas de areia. A manutenção das condições de restrição hídrica (40%) e ausência de restrição (60%) era feita, realizando a pesagem das bandejas, que continham inicialmente 15 kg de areia seca, adicionando o volume de água necessária para atingir os níveis desejados, de acordo com os teste de retenção de água realizados anteriormente.

As sementes foram semeadas dia 06 de março de 2024, o experimento foi conduzido até o dia 01 de abril de 2024, quando foi realizada a lavagem da areia presente nas raízes e posteriormente selecionadas as 4 plantas centrais de cada saco plástico para mensuração do comprimento da raiz e parte aérea das plantas, que em seguida foram levadas para estufa de secagem com circulação forçada de ar por 72 horas a 65°C, posteriormente determinada a massa seca da parte aérea e raízes.

**Figura 1.** Detalhes do tratamento das sementes.



Legenda: A = Biochar aderido à semente de soja; B = Aplicação de prolina em sementes de soja.

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e verificado a significância pelo teste F da ANOVA em até 5% de probabilidade foi realizado análises de regressão linear com a característica avaliada. Todas as análises foram realizadas no programa R (R core team 2022) no pacote Agro R. Os gráficos foram elaborados no programa Excel.

#### 4.3 Experimento II – Associação de prolina e biochar em diferentes condições hídricas do substrato

De acordo com os resultados do Experimento I, determinou a dose 11 mg de prolina/grama de semente. Um novo teste foi proposto com novas concentrações de prolina (0 e 11 mg/g de semente) e biochar (0, 250 e 460 mg/g de semente), associados e em duas condições hídricas. O experimento foi conduzido no DBC em esquema fatorial 3 x 2 x 2 (concentrações biochar, prolina e condições hídricas). A aplicação da prolina exógena e do biochar se fez através do tratamento de sementes igual ao realizado na primeira etapa.

Um novo substrato foi preparado, sendo 50% Nitossolo vermelho e 50% areia. Foi realizado teste para determinação da umidade de saturação e a calibração do equipamento ZENTRA Utility Mobile que realizava a leitura da umidade do substrato. Para realização da curva de secagem foram utilizados 5 anéis volumétricos com uma gaze amarada em uma das suas aberturas, sendo preenchidos em sua totalidade com o substrato, que em seguida foi colocada em uma bandeja e receberam água até faltar aproximadamente 3mm para que os anéis fossem completamente submersos em água.

Esses anéis ficaram saturando por aproximadamente 12 horas, tempo suficiente para que o processo de capilaridade transportasse a água até sua completa saturação, quando foi possível

observar um “espelho” de água na superfície do anel. Em seguida foi realizada a pesagem dos anéis e retirada a umidade com o equipamento, sendo repetida 10 vezes durante o processo de secagem do substrato, até que o mesmo atingisse massa constante. Posteriormente foi calculada a curva de calibração do equipamento e definidas as duas condições hídricas, sendo elas 68 % ( $0,330 \text{ m}^3/\text{m}^3$ ) e 34 % ( $0,165 \text{ m}^3/\text{m}^3$ ) da umidade de saturação.

Sementes da cultivar NS 8440, foram semeadas em sacos de polietileno com dimensões de 25 x 8 cm de altura e diâmetro respectivamente, cada um contendo 1 kg do substrato. Foram semeadas 2 sementes em cada saquinho no dia 19 de abril de 2024, sendo realizada a inoculação das sementes com *Bradirizobium japonicum* SEMIA 5079 E SEMIA 5080, com concentração de  $7,0 \times 10^9$  UFC/ml. Após 5 dias foi feito o raleio deixando apenas uma planta por saquinho, sendo conduzidos até o dia 23 de maio de 2024.

Ao final da condução das plântulas, foram avaliadas, comprimento da parte aérea, raiz, número de nódulos, que em seguida foram levadas para estufa de secagem com circulação forçada de ar por 72 horas a  $65^\circ\text{C}$ , posteriormente determinada a massa seca da parte aérea, raiz e nódulos.

**Figura 2.** Detalhes da condução do experimento em casa de vegetação.



Legenda: A = Inoculação das sementes de soja; B = Monitoramento da umidade; C = Reposição da água.

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e verificado a significância pelo teste F da ANOVA em até 5% de probabilidade foi realizado teste de média e análises de

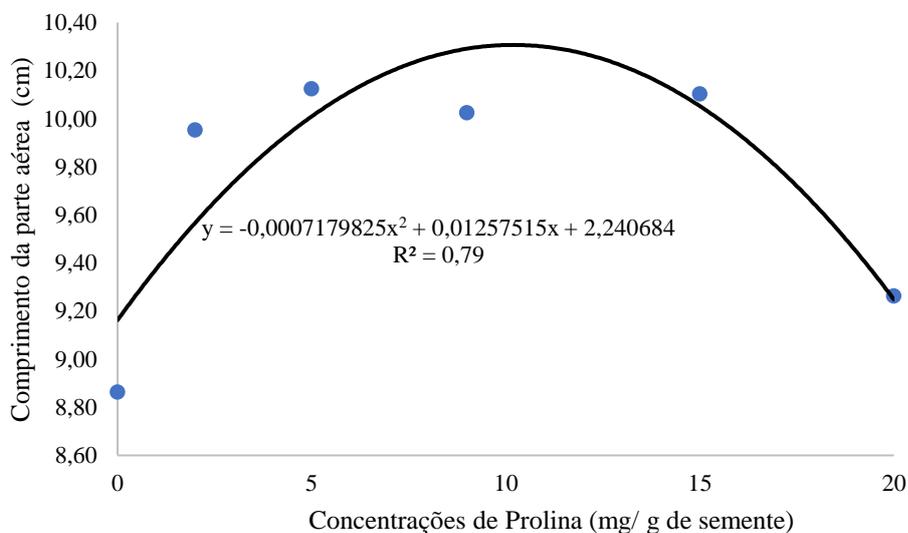
regressão linear com a característica avaliada. Todas as análises foram realizadas no programa R (R core team 2022) no pacote Agro R. Os gráficos foram elaborados no programa Excel.

## 5.0 RESULTADOS

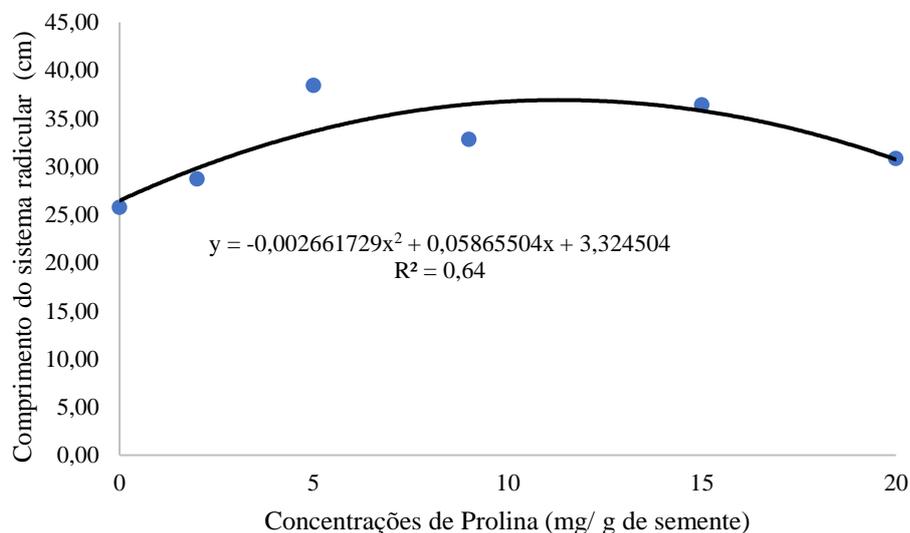
### 5.1 Experimento I

Não houve diferença significativa entre as concentrações bichar e restrição hídrica bem como dos efeitos isolados. Para prolina somente o efeito dose foi significativo em todas variáveis avaliadas. Para a prolina, o comprimento da parte aérea das plântulas de soja, o maior e menor valor observado foram de 10,3cm e 8,86cm c respectivamente, conforme Figura 3. Já para o comprimento da raiz, foram observados valores de 38,43cm e 25,77cm para maior e menor valor médio observado respectivamente (Figura 4).

**Figura 3.** Comprimento de parte aérea de plântulas de soja em função das concentrações de prolina em tratamento de sementes.

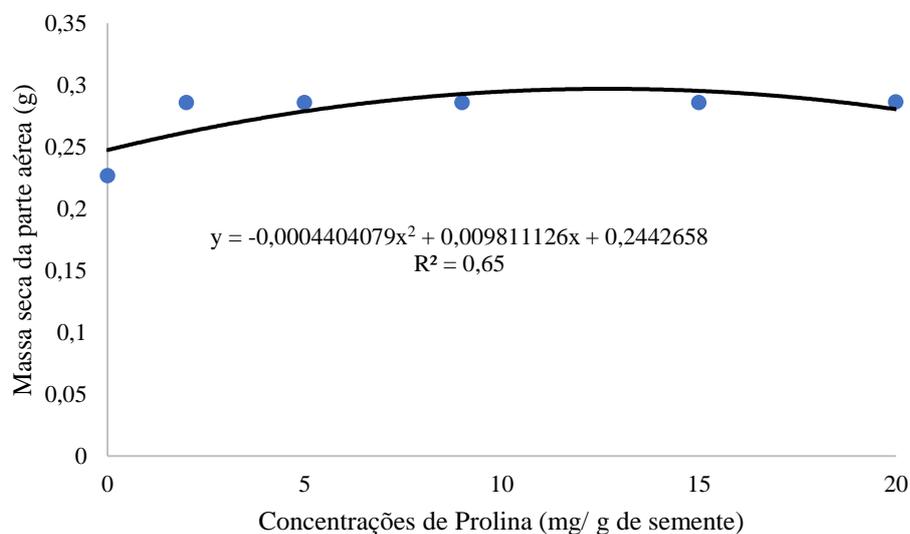


**Figura 4.** Comprimento do sistema radicular de plântulas de soja em função das concentrações de prolina em tratamento de sementes.

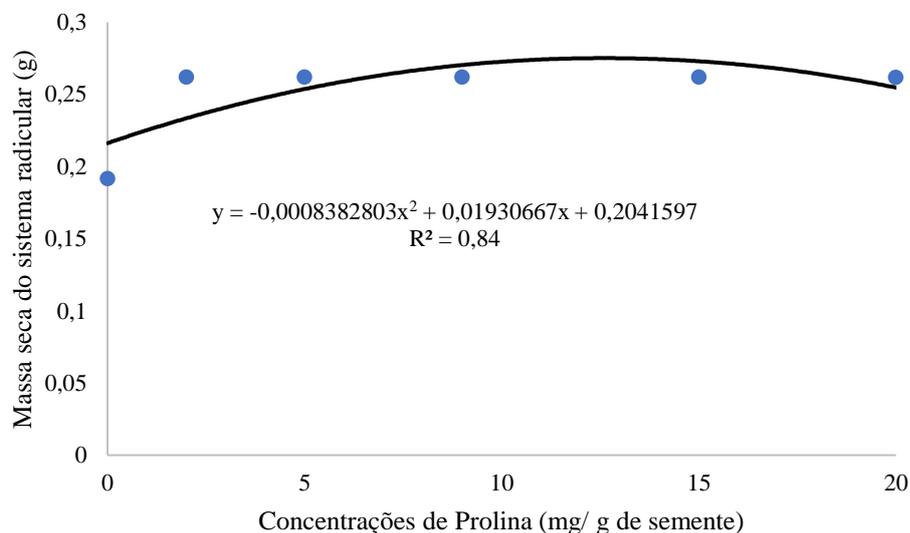


Para a massa seca da parte aérea, o maior valor observado foi de 0,2858 gramas por planta e o menor valor observado, foi de 0,2267 gramas (Figura 5). Para a massa seca do sistema radicular, o maior valor observado foi de 0,2620 e o menor observado foi de 0,1917 gramas por planta (Figura 6). Conforme observado nos gráficos, a melhor dose resposta observada para a prolina ficou próxima de 11 mg/ grama de semente.

**Figura 5.** Massa Seca da Parte Aérea de plântulas de soja em função das concentrações de prolina em tratamento de sementes.



**Figura 6.** Massa Seca do Sistema Radicular de plântulas de soja em função das concentrações de prolina em tratamento de sementes.

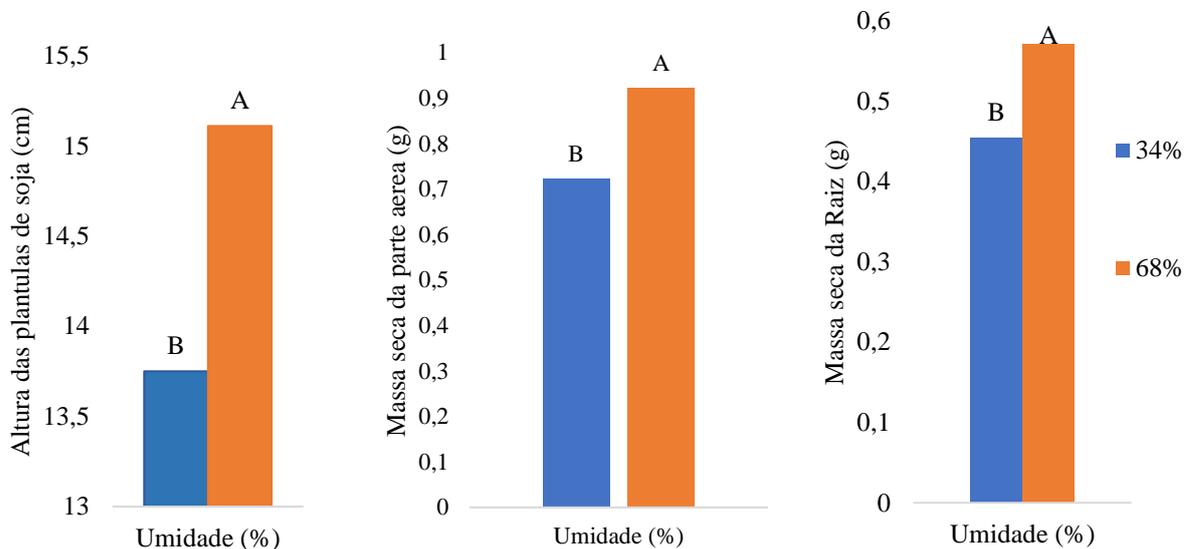


## 5.2 Experimento II

No experimento avaliando a associação de biochar e prolina no tratamento de sementes de soja submetidas a diferentes níveis de restrição hídrica houve diferença significativa apenas para a condição hídrica (34% e 68% da umidade de saturação do substrato), para os parâmetros altura de plantas (AP), número de nódulos (NN), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca de nódulo (MSN). A interação biochar e prolina e seus efeitos isolados não foram significativos pelo teste F da anova.

Em todas variáveis analisadas as plântulas cultivadas a 68% da umidade de saturação do solo apresentaram melhor desempenho quando comparada as plântulas submetidas a 34% da umidade de saturação (Figura 7). Para o componente altura, na condição hídrica de 68%, houve um incremento de 1,36 centímetros, comparadas as plântulas cultivadas com 34% da umidade de saturação. As plântulas à 68% da umidade apresentaram 0,20 gramas a mais se comparada ao tratamento com 34%, mesmo comportamento foi observado na massa seca da raiz, que apresentou 0,1164 gramas entre os tratamentos.

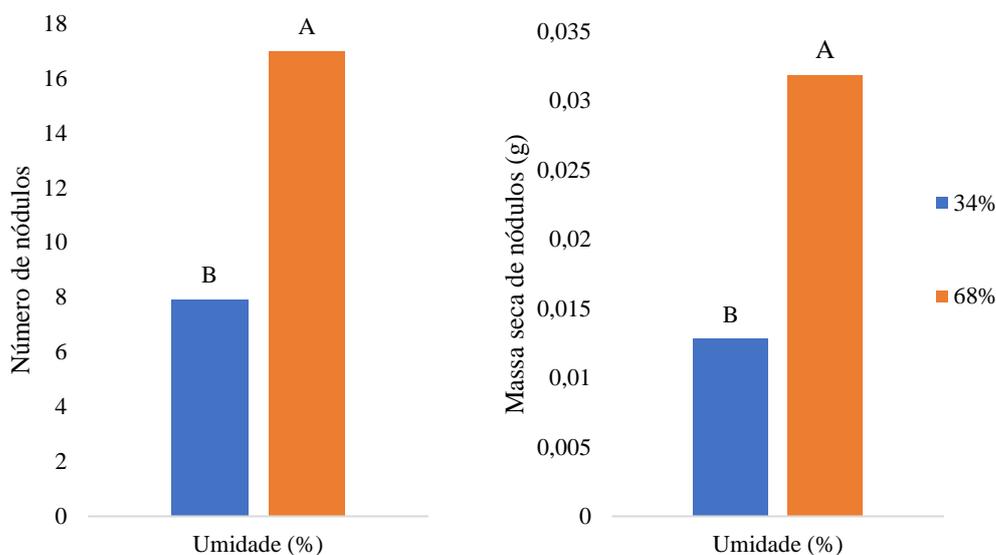
**Figura 7.** Desempenho de plântulas de soja sob diferentes condições hídricas do substrato, independentemente das concentrações de prolina e biochar no tratamento de sementes.



Legenda: ALT = Altura de plântulas (cm); MSPA = Massa Seca da Parte Aérea (g); MSR = Massa Seca da Raiz (g).

O número de nódulos no tratamento à 68 % foi 114,81% maior que o tratamento sobre estresse hídrico (34%), enquanto a massa de nódulos foi 148,44% maior (Figura 8).

**Figura 8.** Eficiência de nodulação nas raízes de soja sob diferentes condições hídricas do substrato, independentemente das concentrações prolina e biochar no tratamento de sementes.



Legenda: NN = Número de Nódulos; MSN = Massa Seca de Nódulos (g).

**Figura 9.** Plântulas de soja sob estresse



Legenda: P0 = 0 mg de prolina/ g de semente; P11 = 11 mg de prolina/ g de semente; B0 = 0 mg de Biochar/ g de semente; B250 = 250 mg de Biochar/ g de semente; B460 = 460 mg de Biochar/ g de semente.

**Figura 10.** Plântulas de soja sem estresse.



Legenda: P0 = 0 mg de prolina/ g de semente; P11 = 11 mg de prolina/ g de semente; B0 = 0 mg de Biochar/ g de semente; B250 = 250 mg de Biochar/ g de semente; B460 = 460 mg de Biochar/ g de semente.

Não houve interação significativa e nem os efeitos isolados para as fontes de variação biochar e prolina para as variáveis AP, CR, NN, MSPA, MSR e MSN. A tabela 1 apresenta os valores médios entre os tratamentos estudados.

**Tabela 1.** Desempenho das Plântulas de soja sobre uma disponibilidade de 0,330 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup> de água (68%) e 0,165 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup> de água (34%).

68% (0,330 m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> )						
	AP (cm)	CR (cm)	NN	MSPA (g.planta <sup>-1</sup> )	MSR (g.planta <sup>-1</sup> )	MSN (g.planta <sup>-1</sup> )
Controle	15.6	29.32	18.2	0.9547	0.5657	0.0361
P0B250	15.88	27.64	14.6	0.9305	0.6021	0.0239
P0B460	14.4	24.08	17.8	0.8693	0.5581	0.0309
P11B0	14.9	31.94	17.4	0.9425	0.5438	0.0341
P11B250	15.86	30.96	23.8	0.9892	0.6365	0.041
P11B460	14.02	26.8	10	0.8514	0.5181	0.0246
34% (0,165 m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> )						
Controle	13.3	26.66	4	0.6528	0.4324	0.0056
P0B250	14.06	27.54	6.2	0.7717	0.4645	0.0128
P0B460	15.86	24.54	8	0.7769	0.4658	0.0216
P11B0	14.06	31.48	10.6	0.7355	0.4237	0.0129
P11B250	12.3	25.86	9.8	0.7002	0.4631	0.0123
P11B460	12.9	29.64	8.8	0.6984	0.4767	0.0115

Legenda: P0 = 0 mg de prolina/ g de semente; P11 = 11 mg de prolina/ g de semente; B0 = 0 mg de Biochar/ g de semente; B250 = 250 mg de Biochar/ g de semente; B460 = 460 mg de Biochar/ g de semente; AP = Altura de plântulas; CR = Comprimento da raiz; NN = Número de nódulos; MSPA = Massa Seca da Parte Aérea; MSR = Massa seca da Raiz; MSN = Massa seca de nódulos.

## 6.0 DISCUSSÃO

Os resultados apresentados demonstram que a associação de prolina e biochar não despenharam uma interação positiva. As concentrações de biochar propostas para este trabalho levaram em consideração a capacidade de aderência atingida em laboratório com o uso da cola após vários testes de aderência.

Por possuir características físicas e químicas capazes de promover modificações no solo, o biochar possui potencial na atenuação de estresse hídrico, afetando positivamente o desempenho de plantas na época de seca (ROMDHANE *et al.*, 2019).

Faloye *et al.*, (2019) demonstrou que a mistura de biochar com o solo, modifica a textura e a distribuição das partículas, densidade e porosidade, afetando funções hidráulicas e estrutura. Há diversos relatos na literatura, que o efeito do biochar, varia em função do tipo de biochar, característica da matéria prima, processo de aplicação, quantidade e solo (TOMCZYK *et al.*, 2020). Singh (2022) utilizando biochar produzido através de cama fresca de aves, com concentrações que chegavam até 100 toneladas, observaram um aumento significativo na taxa de crescimento das culturas e na produção de biomassa.

Entretanto há trabalhos, onde a aplicação de prolina, afetou de forma negativa o crescimento de mudas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) e favoreceu o crescimento de das raízes e parte aérea de mudas de arroz (*Oryza sativa*), o que sugere que a aplicação de prolina afeta de forma diferente o crescimento, o que é dependente da espécie e da fase de desenvolvimento das plantas (SUEKAWA; FUJIKAWA; ESAKA, 2019).

Ghafoor *et al.*, (2019), cultivando aveia em ambiente com limitação de água e aplicação foliar de prolina, melhorou consideravelmente o crescimento, peso fresco e seco das plantas. Farooq *et al.*, (2017) estudando trigo (*Triticum aestivum*) sob deficiência hídrica, observaram que a aplicação foliar de prolina foi benéfica para a melhoria da eficiência no uso da água ao se ajustar osmoticamente.

Biancucci *et al.* (2015), estudando o uso da prolina em *Arabidopsis* sp., observaram a promoção de um maior alongamento das raízes, através da modulação da taxa de divisão celular. Teixeira *et al.* (2019) observaram que plantas em regime de ausência de estresse hídrico, a estresse hídrico moderado, submetidas a tratamento de sementes e aplicação foliar de prolina, apresentaram maior matéria seca da raiz.

Russo *et al.* (2020) analisando os efeitos da prolina e polihidroxitirato no cultivo de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) identificaram que ambos os elicitores estimularam o desenvolvimento radicular e da parte aérea, além da produção de vagens, porém melhores resultados foram os que continham prolina via tratamento de sementes associado à aplicação foliar.

Estudos utilizando a aplicação foliar de prolina tem sido desenvolvido em busca de mitigar os efeitos deletérios ocasionados por estresses. Neste contexto, Souza *et al.* (2021), estudando os índices fisiológicos e crescimento de porta-enxertos de cajueiro sob estresse salino e concentrações de prolina, observaram que, a aplicação de prolina na concentração de 7,4 mM promoveu maior alocação de fitomassa seca de caule nos porta-enxertos de cajueiro irrigados com água salina.

## **7.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A associação de prolina e biochar ou seu uso isolado no tratamento de sementes nas concentrações testadas neste trabalho não foram capazes de promover alterações positivas no desempenho de plântulas de soja quando cultivadas em substrato com 68% e 34% da umidade de saturação do substrato.

A restrição hídrica limitou o crescimento e produção de biomassa, número e massa de nódulos em plântulas de soja.

## 8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFOSEA-SIMÓN, M.; ZAVALA-GONZALEZ, E. A.; CAMARA-ZAPATA, J. M.; MARTÍNEZ-NICOLÁS, J. J.; SIMÓN, I.; SIMÓN-GRAO, S.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. Effect of foliar application of amino acids on the salinity tolerance of tomato plants cultivated under hydroponic system. *Scientia Horticulturae*, v. 272, 2020.
- ANSARI, W. A.; ATRI, N.; PANDEY, M.; SINGH, A. K.; SINGH, B.; PANDEY, S. Influence of Drought Stress on Morphological, Physiological and Biochemical Attributes of Plants: A Review. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, v.16, n.4, p.697-709, 2019. DOI: <https://doi.org/10.13005/bbra/2785>.
- ARANTES, M. K.; SILVA FILHO, M. P.; PENNACCHI, J. P.; MENDONÇA, A. M. C.; BARBOSA, J. P. R. A. D. (2020). Phenotypic plasticity of leaf anatomical traits helps to explain gas-exchange response to water shortage in grasses of different photosynthetic types. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, v. 32, p. 341-356, 2020. <https://doi.org/10.1007/s40626-020-00190-x>
- BIANCUCCI, M.; MATTIOLI, R.; MOUBAYIDIN, L.; SABATINI, S.; COSTANTINO, P.; TROVATO, M. Proline affects the size of the root meristematic zone in *Arabidopsis*. **BMC Plant Biology**, v. 15, p. 263. 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Bioinsumos. Brasília, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos>. Acesso em: 27 abr. 2022.
- CHA, J. S.; PARK, S. H.; JUNG, S.; RYU, C.; JEON, J.; SHIN, M.; PARK, Y. Production and utilization of biochar: A review, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, Vol.40, 2016, pp. 1-15.
- CONTI, V.; MARERI, L.; FALERI, C.; NEPI, M.; ROMI, M.; CAI, G.; CANTINI, C. Drought stress affects the response of italian local tomato (*Solanum lycopersicum* L.) varieties in a genotype-dependent manner. *Plants*, v.8, n.9, p.336, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants8090336>.
- CUI H. Challenges and approaches to crop improvement through C3-to-C4 engineering. *Frontiers in plant science*, v. 12, p. 715391, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.715391>.

DIAS, Reinaldo. Mudanças climáticas e insegurança alimentar: uma revisão sistemática dos efeitos do aquecimento global na produção e disponibilidade de alimentos. **Revista Foco**, v. 16, n. 9, p. e3142-e3142, 2023.

DRESSELHAUS, Thomas; RALPH Hückelhoven. Respostas ao estresse biótico e abiótico em plantas cultivadas. *Agronomy*, v 8, no.11: 267.2018. <https://doi.org/10.3390/agronomia8110267>.

EL-BETALGI, H. S.; MOHAMED, H. I.; SOFY, M. R. Role of ascorbic acid, glutathione and proline applied as singly or in sequence combination in improving chickpea plant through physiological change and antioxidant defense under different levels of irrigation intervals. *Molecules*, v. 25, p. 1702, 2020.

EMBRAPA. Aproveitamento de resíduos orgânicos. Embrapa Agrobiologia, Seropédica, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agrobiologia/pesquisa-e-desenvolvimento/aproveitamento-de-residuos-organicos>. Acesso em: 21 abr. 2022.

FALOYE, O. T. *et al.* Effects of biochar and inorganic fertiliser applications on growth, yield and water use efficiency of maize under deficit irrigation. **Agricultural Water Management**, v. 217, p. 165-178, 2019.

FAROOQ, M. *et al.* Improving resistance against termical drought in bread wheat by exogenous application of proline and gamma-aminonobutyric acid. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 203, n. 6, p. 464-472, dec. 2017.

FICHMAN, Y. *et al.* Evolution of proline biosynthesis: enzymology, bioinformatics, genetics, and transcriptional regulation. **Biological Reviews**, v. 90, n. 4, p. 1065- 1099, nov. 2015.

GHAFOOR, R. *et al.* Exogenously applied proline induced changes in key anatomical features and physio-biochemical attributes in water stressed oat (*Avena sativa* L.) plants. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 25, n. 151, p. 1-15, jul. 2019

GOLLDACK, D. *et al.* Tolerance to drought and salt stress in plants: Unraveling the signaling networks. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 151, p. 1-10, apr.2014.

HOSSAIN, Mohammad Anwar; LI, Zhong-Guang; HOQUE, Tahsina Sharmin; BURRITT, David J.; FUJITA, Masayuki; MUNNÉ-BOSCH, Sergi. Heat or cold priming-induced cross-tolerance to abiotic stresses in plants: key regulators and possible mechanisms. *Protoplasma*,

v. 255, n. 1, p. 399-412, 4 ago. 2017. Springer Science and Business Media LLC.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00709-017-1150-8>.

HUSSAIN, H. A.; MEN, S.; HUSSAIN, S.; CHEN, Y.; ALI, S.; ZHANG, S.; ZHANG, K.; LI, Y.; XU, Q.; LIAO, C.; WANG, L. Interactive effects of drought and heat stresses on morpho-physiological attributes, yield, nutrient uptake and oxidative status in maize hybrids. *Scientific reports*, v. 9, n. 1, p. 3890, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40362-7>

IBGE. Produção Agrícola Municipal 2022. *Prod. Agríc. Munic*, Rio de Janeiro, v 49, p. 1-12, 2022.

KAHLAOU, B.; HACHICHA, M.; MISLE, E.; FIDALGO, F.; TEIXEIRA, J. Physiological and biochemical responses to the exogenous application of proline of tomato plants irrigated with saline water. *Journal of The Saudi Society of Agricultural Sciences*, [s.l.], v.17, n. 1, p. 17-23, 2015.

KAPOOR, D.; BHARDWAJ, S.; LANDI, M.; SHARMA, A.; RAMAKRISHNAN, M.; & SHARMA, A. The impact of drought in plant metabolism: How to exploit tolerance mechanisms to increase crop production. *Applied Sciences*, v. 10, n. 16, p. 5692, 2020. <https://doi.org/10.3390/app10165692>.

KHAN, M. I.R.; ASGHER, M.; KHAN, N. A. Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 80, p. 67-74, jul. 2014.

LIU, N.; CHARRUA, A. B.; WENG, C. H.; YUAN, X.; DING, F. Characterization of Biochars Derived from Agriculture Wastes and Their Adsorptive Removal of Atrazine from Aqueous Solution: A Comparative Study, *Bioresource Technology*, Vol. 198, 2015, pp. 55-62.

MAIA, C. M. B. F. Finos de carvão: fonte de carbono estável e condicionador de solos. *Embrapa Florestas*, Colombo, p. 9-12, 2010b.

MEENA, M. *et al.* Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions. *Heliyon*, v. 5, n.12, p. 1-20, dec. 2019.

NEPOMUCENO, A.; FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N. Características da soja. EMBRAPA, 2021. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/en/agencia-de->

informacaotecnologica/cultivos/soja/pre-producao/caracteristicas-da-especie-e-relacoes-com-oambiente/caracteristicas-da-soja>. Acesso em: 15 jun. 2022.

NÓBREGA, I. P. C. Efeitos do biochar nas propriedades físicas e químicas do solo: sequestro de carbono no solo. 2011. 46f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) – Instituto de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2011.

PER, T. S.; KHAN, N. A.; REDDY, P. S.; MASOOD, A.; HASANUZZAMAN, M.; KHAN, M. I. R.; ANJUM, N. A. Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: Phytohormones, mineral nutrients and transgenics. **Plant physiology and biochemistry**, v. 115, p. 126-140, 2017.

PINTO, L. F. G. A quem interessa uma agricultura que dependa dos agrotóxicos? Le Monde Diplomatique Brasil, São Paulo, 2018. Disponível em: <https://diplomatique.org.br/dependencia-dos-agrotoxicos/>. Acesso em: 29 abr. 2022.

REJEB, K. B.; ABDELLY, C.; SAUVORÉ, A. How reactive oxygen species and proline face stress together. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 80, p. 278-284, jul.2014.

ROMDHANE, Leila et al. O biocarvão da madeira produz diferentes taxas de crescimento radicular e transpiração em dois híbridos de milho (*Zea mays* L.) sob estresse hídrico. **Arquivos de Agronomia e Ciência do Solo**, v. 65, n. 6, p. 846-866, 2019.

RUSSO, G. R.; TEIXEIRA, N. T.; ARRUDA, A. C.; TOMAZ JUNIOR, D. J. Prolina e polihidroxibutirato no cultivo de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v.3, p.1807-1823, 2020.

SCHERTL, P. *et al.* Biochemical characterization of proline dehydrogenase in *Arabidopsis* mitochondria. **The FEBS Journal**, v. 128, n. 12, p. 2794-2804, jun. 2014.

SELEIMAN, M. F.; AL-SUHAIBANI, N.; ALI, N.; AKMAL, M.; ALOTAIBI, M.; REFAY, Y.; DINDAROGLU, T.; ABDUL-WAJID, H.H. & BATTAGLIA, M.L. Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. *Plants*, v, 10, n. 2, p.259, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10020259>.

SENTELHAS, P. C. et al. The soybean yield gap in Brazil – magnitude, causes and possible solutions for sustainable production. *Journal of Agricultural Science*, 153, 1394– 1411. Abr. 2015.

- SERRA, L. S.; MENDES, M. R. F.; SOARES, M. V. A.; MONTEIRO, I. P. Revolução Verde: reflexões acerca da questão dos agrotóxicos. *Revista Científica do Centro de Estudos em Desenvolvimento Sustentável da UNDB*, [S. l.], v. 1, n. 4, p. 2-25, 2016. Disponível em: <https://www.undb.edu.br/ceds/revistadoceds>. Acesso em: 21 abr. 2022.
- SINGH, H., NORTHUP, B. K., RICE, C. W., & PRASAD, P. V. (2022). Biochar applications influence soil physical and chemical properties, microbial diversity, and crop productivity: a meta-analysis. *Biochar*, 4(1), 8.
- SONMEZ, M. C.; OZGUR, R.; UZILDAY, B.; TURKAN, I.; GANIE, S. A. Redox regulation in C3 and C4 plants during climate change and its implications on food security. *Food and Energy Security*, p. e387, 2022. <https://doi.org/10.1002/fes3.387>.
- SOHI, S. P., KRULL, E., LOPEZ-CAPEL, E., and BOL, R. (2010). A Review of Biochar and its Use and Function in Soil. In *Advances in Agronomy*. Academic Press, 47–82. [https://doi:10.1016/S0065-2113\(10\)05002-9](https://doi:10.1016/S0065-2113(10)05002-9).
- SOUZA, L. P.; NOBRE, R. G.; GHEYI, H. R.; FATIMA, R. T. ; LIMA, G. S. de; DINIZ, G. L. Índices fisiológicos e crescimento de porta-enxertos de cajueiro sob estresse salino e concentrações de prolina. *Irriga*, v. 1, p. 169-183, 2021.
- SUEKAWA, M.; FUJIKAWA, Y.; ESAKA, M. Exogenous proline has favorable effects on growth and Browning suppression in rice but not in tobacco. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 142, p. 1-7, sep. 2019.
- SZABABOS, L.; SAUVORÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 2, p. 89-97, feb. 2010.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- TEIXEIRA, W. F.; FAGAN, E. B.; SOARES, L. H.; UMBURANAS, R. C.; REICHARDT, K.; NETO, D. D. Foliar and seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. *Frontiers in Plant Science*, v. 8, p. 1–14, 2017.
- TEIXEIRA, W.F.; SOARES, L.H.; FAGAN, E.B.; MELLO, S.C.; REICHARD, K.; DOURADO NETO, D. Amino acids as stress reducers in soybean plant growth under diferente water-deficit conditions. **Journal of Plant Growth Regulation**, [s.l.], v.39, n.2, p.905-919, 2019.

TOMCZYK, Agnieszka; SOKOŁOWSKA, Zofia; BOGUTA, Patrycja. Biochar physicochemical properties: pyrolysis temperature and feedstock kind effects. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 19, n. 1, p. 191-215, 2020.

TONHATI, R. **L-prolina no alívio do estresse térmico em tomateiro cultivado em ambiente protegido**. 2018. 51f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Fitotecnia, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

VOLPATO, L. Seleção de progênies de soja para produção de grãos com uso de modelos mistos. 65 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.

YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A.; BROWN, P.H. Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Frontiers in Plant Science*. 7:2049, 2017.

YAMORI, W.; HIKOSAKA, K.; WAY, D. A. Temperature response of photosynthesis in C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, and CAM plants: temperature acclimation and temperature adaptation. *Photosynthesis research*, v. 119, p. 101-117, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9874-6>.

YOUSUF, Peerzada Yasir; AHMAD, Altaf; GANIE, Arshid Hussain; SAREER, Ovais; KRISHNAPRIYA, Vengavasi; AREF, Ibrahim M.; IQBAL, Muhammad. Antioxidant response and proteomic modulations in Indian mustard grown under salt stress. *Plant Growth Regulation*, v. 81, n. 1, p. 31-50, 3 jun. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10725-016-0182-y>.

## ANEXOS

ANEXO A – Análise estatística do ensaio de concentração resposta de prolina e biochar no tratamento de sementes de soja.

### EXPERIMENTO

Prolina doses: 0,2,5 9,15 e 20 mg/g

Biochar doses: 0, 193, 362, 468 mg/g

Água: 40% e 60% da capacidade de retenção de água na areia

EXPERIMENTO DOSES DE PROLINA

COMPRIMENTO DE RAIZ

#### Normality of errors

	Method	Statistic	p.value
Shapiro-wilk normality test	(W)	0.9873229	0.2117822

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered normal

#### Homogeneity of Variances

	Method	Statistic	p.value
Bartlett test	(Bartlett's K-squared)	7.857066	0.7260476

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, the variances can be considered homogenous

#### Independence from errors

	Method	Statistic	p.value
Durbin-watson test	(DW)	2.001319	0.1446041

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered independent

#### Additional Information

CV (%) = 7.71  
Mean = 34.5535  
Median = 33.05  
Possible outliers = No discrepant point

#### Analysis of Variance

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(F)
DOSE	5	2.6979849	0.53959699	7.4290596	3.694881e-06
CAP RETENCAO	1	0.2835455	0.28354545	3.9037950	5.029489e-02
Block	2	0.6301499	0.31507493	4.3378864	1.500649e-02
DOSE x CAP RETENCAO	5	0.3196744	0.06393488	0.8802421	4.963801e-01
Residuals	130	9.4423268	0.07263328		

#### No significant interaction

-----  
**DOSE**  
 -----

-----  
 Regression Models  
 -----

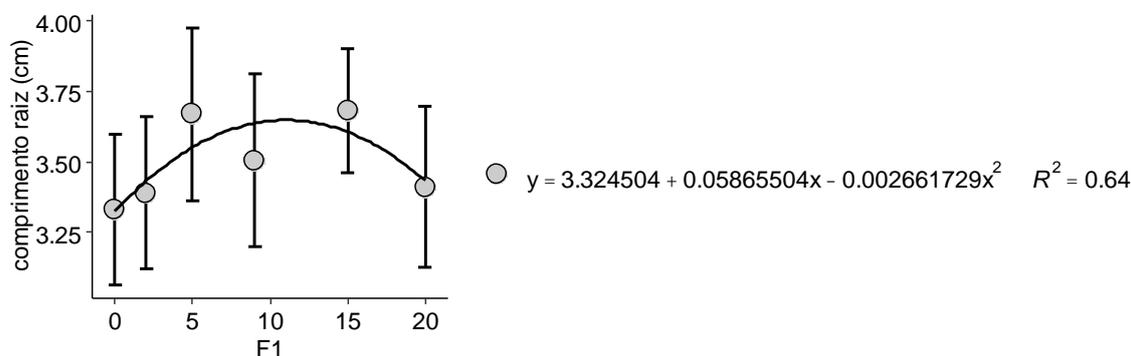
	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	3.324503973	0.0472891291	70.301654	1.172518e-111
trat	0.058655042	0.0128656698	4.559035	1.105037e-05
I(trat^2)	-0.002661729	0.0006249258	-4.259271	3.726426e-05

-----  
 Deviations from regression  
 -----

	Df	SSq	MSQ	F	p-value
Linear	1	2.415772e-01	0.2415772	0.002934285	0.9568836
Quadratic	1	1.497000e+00	1.4969999	0.018183105	0.8929432
Deviation	3	9.594078e-01	0.3198026	0.003884439	0.9996647
Residual	130	1.070279e+04	82.3291656		

-----  
 Isolated factors 2 not significant  
 -----

Mean  
 40 33.02917  
 60 36.07778



-----  
**COMPRIMENTO PARTE AEREA**  
 -----

-----  
 Normality of errors  
 -----

	Method	Statistic	p.value
Shapiro-wilk normality test	(w)	0.8646211	3.688221e-10

As the calculated p-value is less than the 5% significance level, H0 is rejected. Therefore, errors do not follow a normal distribution

-----  
 Homogeneity of Variances  
 -----

	Method	Statistic	p.value
Bartlett test	(Bartlett's K-squared)	55.04626	7.600267e-08

As the calculated p-value is less than the 5% significance level, H0 is rejected. Therefore, the variances are not homogeneous

---

### Independence from errors

---

	Method	Statistic	p.value
Durbin-watson test(DW)		1.822901	0.01575202

As the calculated p-value is less than the 5% significance level, H0 is rejected. Therefore, errors are not independent

---

### Additional Information

---

CV (%) = 3.92  
Mean = 9.6236  
Median = 9.7  
Possible outliers = 2 45

---

### Analysis of Variance

---

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(F)
DOSE	5	0.16349769	0.032699537	4.1611444	0.0015382228
CAP RETENCAO	1	0.14779340	0.147793405	18.8072904	0.0000287515
Block	2	0.01364596	0.006822978	0.8682507	0.4221042494
DOSE x CAP RETENCAO	5	0.05239708	0.010479417	1.3335469	0.2540676689
Residuals	130	1.02157951	0.007858304		

Your analysis is not valid

---

### No significant interaction

---

---

#### DOSE

---

---

#### Regression Models

---

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	2.2406835709	0.0156196199	143.453143	1.103523e-154
trat	0.0125751539	0.0042495363	2.959183	3.619098e-03
I(trat^2)	-0.0007179825	0.0002064133	-3.478373	6.712987e-04

---

#### Deviations from regression

---

	Df	SSq	MSQ	F	p-value
Linear	1	0.02061907	0.02061907	0.03367266	0.8546907
Quadratic	1	0.10892357	0.10892357	0.17788126	0.6738970
Deviation	3	0.03395504	0.01131835	0.01848380	0.9965660
Residual	130	79.60402778	0.61233868		

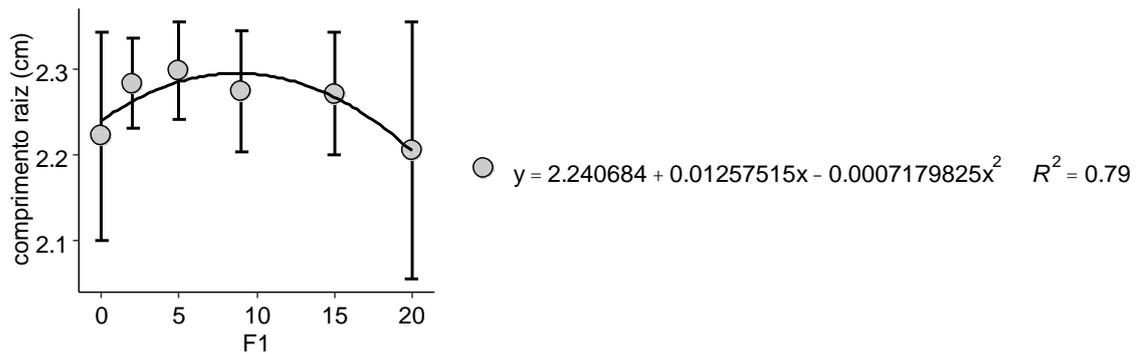
---

#### CAP RETENCAO

---

#### Multiple Comparison Test: Duncan

	resp	groups	respo
60	2.291656	a	9.940278
40	2.227583	b	9.306944



## MATERIA SECA DE RAIZ

### Normality of errors

Method	Statistic	p.value
Shapiro-wilk normality test	0.9627502	0.1303887

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered normal

### Homogeneity of Variances

Method	Statistic	p.value
Bartlett test (Bartlett's K-squared)	18.94429	0.06210088

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, the variances can be considered homogeneous

### Independence from errors

Method	Statistic	p.value
Durbin-watson test	2.139926	0.13112

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered independent

### Additional Information

CV (%) = 24.44  
 Mean = 0.2656  
 Median = 0.261  
 Possible outliers = No discrepant point

### Analysis of Variance

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
DOSE	5	0.079019041	0.0158038082	3.7501408	0.008475739
CAP RETENCAO	1	0.001133935	0.0011339352	0.2690754	0.607413922
Block	3	0.011091122	0.0036970408	0.8772837	0.462806473
DOSE x CAP RETENCAO	5	0.004636156	0.0009272312	0.2200259	0.951376490
Residuals	33	0.139068290	0.0042141906		

### No significant interaction

## DOSE

### Regression Models

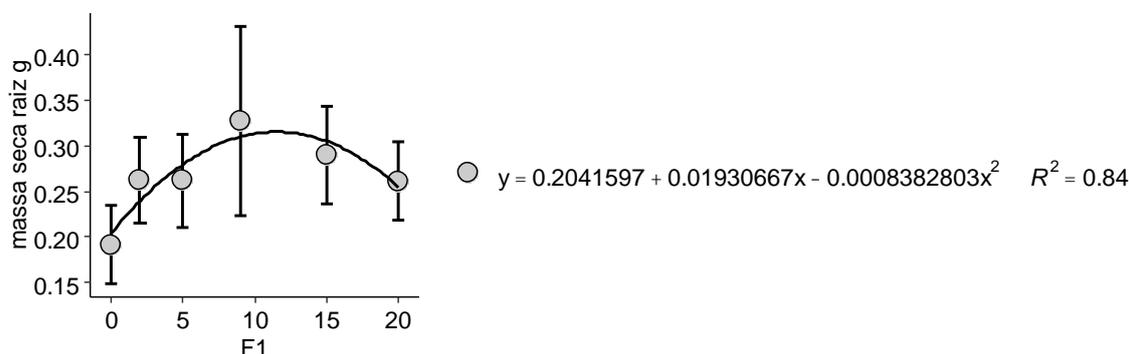
	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.2041597204	0.0174461935	11.702250	3.022639e-15
trat	0.0193066711	0.0047464813	4.067576	1.889093e-04
I(trat^2)	-0.0008382803	0.0002305514	-3.635980	7.090179e-04

### Deviations from regression

	Df	SSq	MSQ	F	p-value
Linear	1	0.01698521	0.016985207	4.0304792	0.052931083
Quadratic	1	0.04949388	0.049493883	11.7445762	0.001652731
Deviation	3	0.01253995	0.004179984	0.9918829	0.408679444
Residual	33	0.13906829	0.004214191		

### Isolated factors 2 not significant

```
Mean
40 0.2607167
60 0.2704375
$residplot
```



## MASSA SECA PARTE AEREA

### Normality of errors

	Method	Statistic	p.value
Shapiro-wilk normality test	(w)	0.9780364	0.4997261

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered normal

### Homogeneity of Variances

	Method	Statistic	p.value
Bartlett test	(Bartlett's K-squared)	10.33417	0.5006028

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, the variances can be considered homogenous

### Independence from errors

-----  
 Method Statistic p.value  
 Durbin-Watson test(DW) 2.394772 0.4184028

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered independent

-----  
**Additional Information**  
 -----

CV (%) = 10.76  
 Mean = 0.2737  
 Median = 0.281  
 Possible outliers = No discrepant point

-----  
**Analysis of Variance**  
 -----

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
DOSE	5	0.025016091	0.0050032182	5.7734787	6.188595e-04
CAP RETENCAO	1	0.018373100	0.0183731002	21.2016941	5.886619e-05
Block	3	0.005726541	0.0019088469	2.2027196	1.062795e-01
DOSE x CAP RETENCAO	5	0.004162421	0.0008324842	0.9606477	4.558618e-01
Residuals	33	0.028597352	0.0008665864		

-----  
**No significant interaction**  
 -----

-----  
**DOSE**  
 -----

-----  
**Regression Models**  
 -----

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.2442658160	0.0108777509	22.455544	4.396342e-26
trat	0.0098111260	0.0029594445	3.315192	1.816085e-03
I(trat^2)	-0.0004404079	0.0001437495	-3.063718	3.685530e-03

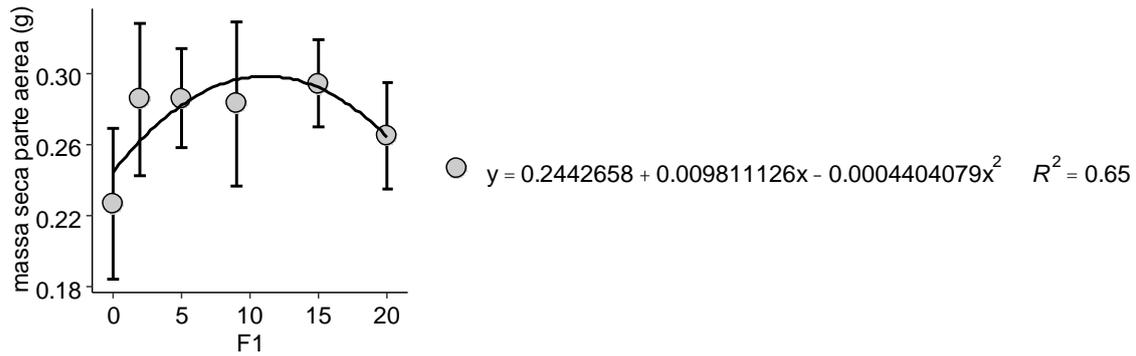
-----  
**Deviations from regression**  
 -----

	Df	SSq	MSQ	F	p-value
Linear	1	0.002721010	0.0027210097	3.139917	0.0856317695
Quadratic	1	0.013661022	0.0136610224	15.764178	0.0003659073
Deviation	3	0.008634059	0.0028780196	3.321099	0.0315805020
Residual	33	0.028597352	0.0008665864		

-----  
**CAP RETENCAO**  
 -----

*Multiple Comparison Test: Duncan*

	resp	groups
60	0.2932750	a
40	0.2541458	b



## EXPERIMENTO DOSES DE BOCHAR

### COMPRIMENTO DE RAIZ

#### Normality of errors

Method	Statistic	p.value
Shapiro-wilk normality test(W)	0.9788063	0.04828395

As the calculated p-value is less than the 5% significance level, H0 is rejected. Therefore, errors do not follow a normal distribution

#### Homogeneity of Variances

Method	Statistic	p.value
Bartlett test(Bartlett's K-squared)	7.504708	0.3782835

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, the variances can be considered homogeneous

#### Independence from errors

Method	Statistic	p.value
Durbin-watson test(DW)	1.747806	0.0111159

As the calculated p-value is less than the 5% significance level, H0 is rejected. Therefore, errors are not independent

#### Additional Information

CV (%) = 9.36  
 Mean = 35.071  
 Median = 34.5  
 Possible outliers = No discrepant point

#### Analysis of Variance

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(F)
DOSE	3	0.1652041	0.05506803	0.511520	0.67514675
CAP RETENCAO	1	0.2166267	0.21662667	2.012218	0.15878921
Block	3	0.6975073	0.23250243	2.159686	0.09670816
DOSE x CAP RETENCAO	3	0.4445999	0.14819998	1.376611	0.25358525
Residuals	113	12.1650910	0.10765567		

Your analysis is not valid

---

---

### No significant interaction

---

---

---

---

### Isolated factors not significant

---

---

```
          40      60
0      35.1250 34.63125
0.193 35.1375 38.87500
0.362 31.8250 38.05625
0.468 35.2250 31.70625
$residplot
```

---

---

### COMPRIMENTO PARTE AEREA

---

---

---

---

### Normality of errors

---

---

```
Method Statistic  p.value
shapiro-wilk normality test(W) 0.9802434 0.06627366
```

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered normal

---

---

### Homogeneity of Variances

---

---

```
Method Statistic  p.value
Bartlett test(Bartlett's K-squared) 7.072216 0.4213998
```

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, the variances can be considered homogeneous

---

---

### Independence from errors

---

---

```
Method Statistic  p.value
Durbin-Watson test(DW) 1.875298 0.0587845
```

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered independent

---

---

### Additional Information

---

---

```
CV (%) = 3.73
Mean = 9.0347
Median = 8.8
Possible outliers = 34
```

---

---

### Analysis of Variance

---

---

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(F)
DOSE	3	0.04377902	0.01459301	2.175833	9.477579e-02
CAP RETENCAO	1	0.55644687	0.55644687	82.966827	3.521229e-15
Block	3	0.10356422	0.03452141	5.147179	2.258440e-03
DOSE x CAP RETENCAO	3	0.03612323	0.01204108	1.795338	1.520984e-01
Residuals	113	0.75787514	0.00670686		

---

---

### No significant interaction

---

---

---

## CAP RETENCAO

---

### Multiple Comparison Test: Duncan

	resp groups	respo
60	2.260786	a 9.629687
40	2.124914	b 8.400000

## MATERIA SECA DE RAIZ

---

### Normality of errors

---

	Method	Statistic	p.value
Shapiro-wilk normality test	(W)	0.9823875	0.8751943

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered normal

### Homogeneity of Variances

---

	Method	Statistic	p.value
Bartlett test	(Bartlett's K-squared)	6.773132	0.4528775

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, the variances can be considered homogeneous

### Independence from errors

---

	Method	Statistic	p.value
Durbin-watson test	(DW)	2.261986	0.3007579

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered independent

### Additional Information

---

CV (%) = -12.82  
Mean = 0.2303  
Median = 0.2293  
Possible outliers = No discrepant point

### Analysis of Variance

---

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(F)
DOSE	3	0.13934307	0.04644769	1.2739144	0.310317681
CAP RETENCAO	1	0.34748957	0.34748957	9.5305488	0.005811593
Block	3	0.03099092	0.01033031	0.2833279	0.836816705
DOSE x CAP RETENCAO	3	0.07209582	0.02403194	0.6591207	0.586760812
Residuals	20	0.72921210	0.03646061		

### No significant interaction

---

## CAP RETENCAO

---

### Multiple Comparison Test: Duncan

	resp groups	respo
60	-1.383596	a 0.2545500

40 -1.602064      b 0.2045267

---

### Isolated factors 1 not significant

---

                  Mean  
0            0.2532429  
0.193    0.2285000  
0.362    0.2297875  
0.468    0.2127125  
\$residplot

## MATERIA SECA PARTE AEREA

---

### Normality of errors

---

                                  Method Statistic    p.value  
Shapiro-wilk normality test(w) 0.9799557 0.811467

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered normal

---

### Homogeneity of Variances

---

                                  Method Statistic    p.value  
Bartlett test(Bartlett's K-squared) 8.955278 0.2558829

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, the variances can be considered homogeneous

---

### Independence from errors

---

                                  Method Statistic    p.value  
Durbin-watson test(DW) 2.721855 0.7987846

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered independent

---

### Additional Information

---

CV (%) = -8.78  
Mean = 0.2469  
Median = 0.2311  
Possible outliers = No discrepant point

---

### Analysis of Variance

---

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(F)
DOSE	3	0.02335496	0.007784987	0.4968755	6.885880e-01
CAP RETENCAO	1	1.29057768	1.290577680	82.3709031	1.574184e-08
Block	3	0.03283165	0.010943884	0.6984915	5.638985e-01
DOSE x CAP RETENCAO	3	0.01183834	0.003946115	0.2518601	8.590645e-01
Residuals	20	0.31335766	0.015667883		

---

### No significant interaction

---

CAP RETENCAO

-----  
*Multiple Comparison Test: Duncan*

	resp	groups		respo
60	-1.228025		a	0.2946875
40	-1.636132		b	0.1959000

-----  
Isolated factors 1 not significant  
-----

	Mean
0	0.2484000
0.193	0.2557250
0.362	0.2466875
0.468	0.2369250

\$residplot

ANEXO B – Análise estatística da associação de prolina e biochar em diferentes condições  
hídricas do substrato

ALTURA DA PLANTA

-----  
Normality of errors

-----  
Shapiro-Wilk normality test

data: anava\$residuals  
W = 0.97815, p-value = 0.3554

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level,  
hypothesis H<sub>0</sub> is not rejected. Therefore, errors can be considered normal

-----  
Homogeneity of Variances

-----  
Bartlett test of homogeneity of variances

data: anava\$residuals by paste(Fator1, Fator2, Fator3)  
Bartlett's K-squared = 9.2462, df = 11, p-value = 0.5992

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level,  
hypothesis H<sub>0</sub> is not rejected. Therefore, the variances can be considered  
homogeneous

-----  
Independence from errors

-----  
Durbin-Watson test

data: anava  
DW = 2.1492, p-value = 0.2013  
alternative hypothesis: true autocorrelation is greater than 0

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level,  
hypothesis H<sub>0</sub> is not rejected. Therefore, errors can be considered  
independent

-----  
Additional Information

-----  
CV (%) = 15.95  
Mean = 14.4283  
Median = 14.15  
Possible outliers = No discrepant point

-----  
Analysis of Variance

-----  

	Df	Sum Sq	Mean.Sq	F value	Pr(F)
PROLINA	1	10.6681667	10.6681667	2.01529866	0.16276707
BIOCHAR	2	0.5693333	0.2846667	0.05377572	0.94770680
UMIDADE	1	27.8801667	27.8801667	5.26677772	0.02656317
Block	4	21.1460000	5.2865000	0.99866047	0.41847614
PROLINA x BIOCHAR	2	7.2413333	3.6206667	0.68397176	0.50989274

PROLINA x UMIDADE	1	3.4081667	3.4081667	0.64382887	0.42664050
BIOCHAR x UMIDADE	2	20.7693333	10.3846667	1.96174333	0.15271930
PROLINA x BIOCHAR x UMIDADE	2	11.3613333	5.6806667	1.07312158	0.35071890
Residuals	44	232.9180000	5.2935909		

-----  
 Non-significant interaction: analyzing the simple effects  
 -----

-----  
 PROLINA  
 -----

	Niveis	Medias
1	0	14.85000
2	11	14.00667

-----  
 BIOCHAR  
 -----

	Niveis	Medias
1	0	14.465
2	250	14.525
3	460	14.295

-----  
 UMIDADE  
 -----

Multiple Comparison Test: Tukey HSD

	resp	groups
60	15.11000	a
25	13.74667	b

-----  
 COMPRIMENTO DE RAIZ  
 -----

Normality of errors

-----  
 Shapiro-Wilk normality test

data: anava\$residuals  
 W = 0.97282, p-value = 0.2001

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered normal

-----  
 Homogeneity of Variances  
 -----

Bartlett test of homogeneity of variances

data: anava\$residuals by paste(Fator1, Fator2, Fator3)  
 Bartlett's K-squared = 18.6, df = 11, p-value = 0.06865

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, the variances can be considered homogeneous

Independence from errors

-----  
Durbin-Watson test

data: anava  
DW = 2.6859, p-value = 0.9067  
alternative hypothesis: true autocorrelation is greater than 0

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered independent

-----  
Additional Information

-----  
CV (%) = 25.83  
Mean = 28.0383  
Median = 26.85  
Possible outliers = No discrepant point

-----  
Analysis of Variance

	Df	Sum Sq	Mean.Sq	F value	Pr(F)
PROLINA	1	119.00417	119.00417	2.269086498	0.1391239
BIOCHAR	2	128.56633	64.28317	1.225705533	0.3033771
UMIDADE	1	10.50017	10.50017	0.200209682	0.6567468
Block	4	246.04267	61.51067	1.172841482	0.3358348
PROLINA x BIOCHAR	2	29.99033	14.99517	0.285917134	0.7527101
PROLINA x UMIDADE	1	0.07350	0.07350	0.001401446	0.9703068
BIOCHAR x UMIDADE	2	49.08033	24.54017	0.467914380	0.6293877
PROLINA x BIOCHAR x UMIDADE	2	44.30700	22.15350	0.422407124	0.6580969
Residuals	44	2307.61733	52.44585		

-----  
Non-significant interaction: analyzing the simple effects

-----  
PROLINA

	Niveis	Medias
1	0	26.63000
2	11	29.44667

-----  
BIOCHAR

	Niveis	Medias
1	0	29.850
2	250	28.000
3	460	26.265

-----  
UMIDADE

	Niveis	Medias
--	--------	--------

1 25 27.62000  
2 60 28.45667

NĂŠMERO DE NĂŠS

-----  
Normality of errors  
-----

Shapiro-Wilk normality test

data: anava\$residuals  
W = 0.98618, p-value = 0.7314

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered normal

-----  
Homogeneity of Variances  
-----

Bartlett test of homogeneity of variances

data: anava\$residuals by paste(Fator1, Fator2, Fator3)  
Bartlett's K-squared = 19.214, df = 11, p-value = 0.05737

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, the variances can be considered homogeneous

-----  
Independence from errors  
-----

Durbin-Watson test

data: anava  
DW = 2.0546, p-value = 0.114  
alternative hypothesis: true autocorrelation is greater than 0

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered independent

-----  
Additional Information  
-----

CV (%) = 54.05  
Mean = 12.4333  
Median = 12  
Possible outliers = No discrepant point

-----  
Analysis of Variance  
-----

	Df	Sum Sq	Mean.Sq	F value	Pr(>F)
PROLINA	1	56.06667	56.06667	1.2414325	2.712445e-01
BIOCHAR	2	60.43333	30.21667	0.6690598	5.173230e-01

UMIDADE	1	1233.06667	1233.06667	27.3026587	4.567892e-06
Block	4	155.23333	38.80833	0.8592972	4.958196e-01
PROLINA x BIOCHAR	2	252.03333	126.01667	2.7902709	7.229545e-02
PROLINA x UMIDADE	1	45.06667	45.06667	0.9978697	3.232887e-01
BIOCHAR x UMIDADE	2	96.63333	48.31667	1.0698314	3.518210e-01
PROLINA x BIOCHAR x UMIDADE	2	155.03333	77.51667	1.7163801	1.915288e-01
Residuals	44	1987.16667	45.16288		

-----  
Non-significant interaction: analyzing the simple effects  
-----

-----  
PROLINA  
-----

	Niveis	Medias
1	0	11.46667
2	11	13.40000

-----  
BIOCHAR  
-----

	Niveis	Medias
1	0	12.55
2	250	13.60
3	460	11.15

-----  
UMIDADE  
-----

Multiple Comparison Test: Tukey HSD

	resp	groups
60	16.96667	a
25	7.90000	b

-----  
MATERIALIA SECA PARTE AEREA  
-----

Normality of errors  
-----

Shapiro-Wilk normality test

data: anava\$residuals  
W = 0.9838, p-value = 0.6079

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered normal

-----  
Homogeneity of Variances

-----  
Bartlett test of homogeneity of variances

data: anava\$residuals by paste(Fator1, Fator2, Fator3)  
Bartlett's K-squared = 10.975, df = 11, p-value = 0.4454

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, the variances can be considered homogeneous

-----  
Independence from errors

-----  
Durbin-Watson test

data: anava  
DW = 2.0621, p-value = 0.1197  
alternative hypothesis: true autocorrelation is greater than 0

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered independent

-----  
Additional Information

-----  
CV (%) = 18.78  
Mean = 822.7467  
Median = 809.25  
Possible outliers = No discrepant point

-----  
Analysis of Variance

	Df	Sum Sq	Mean.Sq	F value
Pr(F)				
PROLINA	1	624.6827	624.6827	0.02617252
8.722203e-01				
BIOCHAR	2	23939.6253	11969.8127	0.50150287
6.090394e-01				
UMIDADE	1	602041.7340	602041.7340	25.22392488
8.955676e-06				
Block	4	72270.9477	18067.7369	0.75698945
5.588702e-01				
PROLINA x BIOCHAR	2	17438.9973	8719.4987	0.36532348
6.960572e-01				
PROLINA x UMIDADE	1	3830.4060	3830.4060	0.16048368
6.906502e-01				
BIOCHAR x UMIDADE	2	47512.1080	23756.0540	0.99531459
3.777750e-01				
PROLINA x BIOCHAR x UMIDADE	2	33205.3960	16602.6980	0.69560827
5.041721e-01				
Residuals	44	1050186.9323	23867.8848	

-----  
Non-significant interaction: analyzing the simple effects

-----  
PROLINA

-----  
Niveis Medias  
1 0 825.9733  
2 11 819.5200

-----  
BIOCHAR

-----  
Niveis Medias  
1 0 821.37  
2 250 847.87  
3 460 799.00

-----  
UMIDADE

-----  
Multiple Comparison Test: Tukey HSD  
resp groups  
60 922.9167 a  
25 722.5767 b

-----  
MATERIA SECA DE RAIZ

-----  
Normality of errors

-----  
Shapiro-Wilk normality test

data: anava\$residuals  
W = 0.99312, p-value = 0.9831

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level,  
hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered normal

-----  
Homogeneity of Variances

-----  
Bartlett test of homogeneity of variances

data: anava\$residuals by paste(Fator1, Fator2, Fator3)  
Bartlett's K-squared = 17.782, df = 11, p-value = 0.08677

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level,  
hypothesis H0 is not rejected. Therefore, the variances can be considered  
homogeneous

-----  
Independence from errors

-----  
Durbin-Watson test

data: anava  
DW = 1.7617, p-value = 0.009346  
alternative hypothesis: true autocorrelation is greater than 0

As the calculated p-value is less than the 5% significance level, H0 is  
rejected. Therefore, errors are not independent

-----  
 Additional Information  
 -----

CV (%) = 15.28  
 Mean = 512.5417  
 Median = 511.9  
 Possible outliers = No discrepant point

-----  
 Analysis of Variance  
 -----

	Df	Sum Sq	Mean.Sq	F value
Pr(F)				
PROLINA	1	298.8202	298.8202	0.04869845
8.263646e-01				
BIOCHAR	2	26966.6543	13483.3272	2.19736575
1.231405e-01				
UMIDADE	1	203176.2042	203176.2042	33.11144400
7.742494e-07				
Block	4	74396.2867	18599.0717	3.03107405
2.719573e-02				
PROLINA x BIOCHAR	2	3297.5203	1648.7602	0.26869697
7.656200e-01				
PROLINA x UMIDADE	1	329.0042	329.0042	0.05361751
8.179575e-01				
BIOCHAR x UMIDADE	2	20460.3763	10230.1882	1.66720460
2.004775e-01				
PROLINA x BIOCHAR x UMIDADE	2	4711.4743	2355.7372	0.38391238
6.834505e-01				
Residuals	44	269989.8253	6136.1324	

Your analysis is not valid, suggests using a non-parametric test and try to transform the data

-----  
 Non-significant interaction: analyzing the simple effects  
 -----

-----  
 PROLINA  
 -----

	Niveis	Medias
1	0	514.7733
2	11	510.3100

-----  
 BIOCHAR  
 -----

	Niveis	Medias
1	0	491.420
2	250	541.530
3	460	504.675

-----  
 UMIDADE  
 -----

```

-----
Multiple Comparison Test: Tukey HSD
      resp groups
60 570.7333      a
25 454.3500      b
-----

```

MATERIA SECA DE NÓDULOS

Normality of errors

Shapiro-Wilk normality test

data: anava\$residuals  
W = 0.95991, p-value = 0.04655

As the calculated p-value is less than the 5% significance level, H0 is rejected. Therefore, errors do not follow a normal distribution

Homogeneity of Variances

Bartlett test of homogeneity of variances

data: anava\$residuals by paste(Fator1, Fator2, Fator3)  
Bartlett's K-squared = 29.383, df = 11, p-value = 0.001979

As the calculated p-value is less than the 5% significance level, H0 is rejected. Therefore, the variances are not homogeneous

Independence from errors

Durbin-Watson test

data: anava  
DW = 2.0083, p-value = 0.08295  
alternative hypothesis: true autocorrelation is greater than 0

As the calculated p-value is greater than the 5% significance level, hypothesis H0 is not rejected. Therefore, errors can be considered independent

Additional Information

CV (%) = 58.75  
Mean = 22.27  
Median = 16.65  
Possible outliers = No discrepant point

Analysis of Variance

	Df	Sum Sq	Mean.Sq	F value
Pr(F)				
PROLINA	1	12.88067	12.88067	0.075243905
7.851331e-01				

BIOCHAR	2	1.68700	0.84350	0.004927403
9.950853e-01				
UMIDADE	1	5415.00000	5415.00000	31.632349239
1.199854e-06				
Block	4	757.96933	189.49233	1.106941397
3.653082e-01				
PROLINA x BIOCHAR	2	706.46233	353.23117	2.063440744
1.391326e-01				
PROLINA x UMIDADE	1	61.61067	61.61067	0.359905840
5.516358e-01				
BIOCHAR x UMIDADE	2	541.86100	270.93050	1.582671874
2.168966e-01				
PROLINA x BIOCHAR x UMIDADE	2	449.67233	224.83617	1.313406490
2.792369e-01				
Residuals	44	7532.16267	171.18552	

Your analysis is not valid, suggests using a non-parametric test and try to transform the data

-----  
 Non-significant interaction: analyzing the simple effects  
 -----

-----  
 PROLINA  
 -----

	Niveis	Medias
1	0	21.80667
2	11	22.73333

-----  
 BIOCHAR  
 -----

	Niveis	Medias
1	0	22.180
2	250	22.505
3	460	22.125

-----  
 UMIDADE  
 -----

Multiple Comparison Test: Tukey HSD  
 resp groups

60	31.77	a
25	12.77	b

-----  
 >