



## Inoculação de bactérias diazotróficas em associação com substâncias húmicas e nitrogênio sobre o crescimento de plantas de milho <sup>(1)</sup>

Juan Ricardo Rocha<sup>(2)</sup>; Érica de Oliveira Araújo<sup>(3)</sup> Juliana Guimarães Gerola<sup>(4)</sup>;  
Laraianny Mayra Silva Oliveira<sup>(5)</sup>; Leandro Cecílio Matte<sup>(6)</sup>

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos do IFRO – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia;  
<sup>(2,4,5)</sup> Graduando (a) em Agronomia; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Campus Colorado do Oeste; Colorado do Oeste, Rondônia. [juan\\_rocha4@hotmail.com](mailto:juan_rocha4@hotmail.com); <sup>(3,6)</sup> Professor (a); Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Campus Colorado do Oeste; Colorado do Oeste, Rondônia. [erica.araujo@ifro.edu.br](mailto:erica.araujo@ifro.edu.br); [leandro.matte@ifro.edu.br](mailto:leandro.matte@ifro.edu.br).

**RESUMO:** Objetivou-se com o presente trabalho avaliar o crescimento de plantas de milho em resposta a inoculação de *Azospirillum brasilense* em associação com substâncias húmicas e nitrogênio, em condições controladas de casa de vegetação. O experimento foi conduzido no Setor de Produção Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Campus de Colorado do Oeste, RO. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo os tratamentos constituídos: 1) Controle; 2) Inoculação; 3) 80 kg ha<sup>-1</sup> de N; 4) Inoculação + Ácido húmico; 5) Inoculação + 80 kg ha<sup>-1</sup> N e 6) Inoculação + 80 kg ha<sup>-1</sup> N + Ácido húmico. Na semeadura foram utilizadas sementes de milho BRS Caatingueiro, sendo previamente inoculadas com produto contendo uma combinação de duas estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), em inoculante com formulação líquida. Os ácidos húmicos foram extraídos e cedidos pelo Laboratório de Biotecnologia da UENF, RJ, sendo estes isolados de vermicomposto. O material foi previamente dissolvido em água, na proporção de 13,5 mg L<sup>-1</sup>, sendo pulverizados, nas plantas, 20 mL por vaso desta solução. Aos 30 dias após a emergência foi determinadas a altura de plantas, diâmetro do colmo, comprimento de raiz, volume de raiz, massa seca da parte aérea e massa seca de raiz. Os resultados permitiram concluir que a inoculação de *Azospirillum brasilense* em associação com a aplicação de ácidos húmicos promove aumento na altura de plantas, diâmetro do caule, comprimento e volume radicular de plantas de milho.

**Termos de indexação:** *Azospirillum brasilense*; ácidos húmicos; Bactérias promotoras do crescimento.

### INTRODUÇÃO

Embora a cultura do milho apresente elevada taxa fotossintética, é muito influenciada por problemas de estresse ambiental, dentre os quais se destacam aqueles relacionados à baixa fertilidade dos solos, que, em sua maioria,

apresentam deficiência de nitrogênio (N) (Araujo et al. 2014).

A identificação, a seleção e o uso de genótipos de milho mais tolerantes à deficiência de N e eficientes na aquisição deste elemento constituem-se numa estratégia importante (Reis Junior et al. 2008). Nesse sentido, deve ser considerada a busca por genótipos que formem associações mais eficientes com bactérias diazotróficas.

Atualmente, sabe-se que bactérias diazotróficas endofíticas, dos mais diferentes gêneros e espécies, têm sido relatadas em associação com um grande número gramíneas, tanto de clima tropical como em clima temperado (Reis Júnior et al. 2008), sendo que a possibilidade da ocorrência de aumentos significativos na produtividade e na disponibilidade de nitrogênio por meio da FBN na cultura do milho tem sido descrita por vários autores. Dentre os microrganismos diazotróficos encontrados em associações com cereais e gramíneas, as espécies de *Azospirillum* constituem um dos grupos mais bem estudados atualmente. Embora as pesquisas envolvendo bactérias endofíticas estejam crescendo nos últimos anos no Brasil, muito pouco se conhece sobre o efeito da utilização de bactérias diazotróficas endofíticas junto com as substâncias húmicas (SH).

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o crescimento de plantas de milho em resposta a inoculação de *Azospirillum brasilense* em associação com substâncias húmicas e nitrogênio, sob condições controladas de casa de vegetação.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Produção Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Campus de Colorado do Oeste, RO, cujas coordenadas geográficas são 13° 06' S e 60° 29' W, com altitude média de 407 metros. O solo utilizado neste estudo, classificado como Argissolo Vermelho-amarelo de textura muito argilosa (Embrapa, 2013), foi coletado na profundidade de 0-20 cm. A análise química do solo antes da instalação do experimento resultou



nos seguintes valores: M.O.: 10,00 g dm<sup>-3</sup>; pH (CaCl<sub>2</sub>): 5,30; P: 1,10 mg dm<sup>-3</sup>; K: 0,14 cmolc dm<sup>-3</sup>; Ca: 5,56 cmolc dm<sup>-3</sup>; Mg 1,15 cmolc dm<sup>-3</sup>; Al: 0,0 cmolc dm<sup>-3</sup>; H+Al: 2,25 cmolc dm<sup>-3</sup>; SB: 6,90 cmolc dm<sup>-3</sup>; CTC: 9,10 cmolc dm<sup>-3</sup>, saturação por bases 75,30%. A análise granulométrica apresentou 199 g kg<sup>-1</sup> de areia, 166 g kg<sup>-1</sup> de silte e 635 g kg<sup>-1</sup> de argila.

A correção do solo e a adubação de base foram feitas de acordo com os resultados da análise química do solo. Os micronutrientes foram aplicados conforme a exigência da cultura, na forma de solução, usando água deionizada e sais p.a., de acordo com Epstein e Bloom (2006). A adubação nitrogenada foi realizada na dose de 80 kg ha<sup>-1</sup> de N, na forma de ureia (45%), aplicados 40 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura e 40 kg ha<sup>-1</sup> de N, em cobertura, aos 15 dias após a emergência das plantas.

As sementes foram postas a germinar diretamente nos vasos, sendo, que aos oito dias após a emergência, realizou-se o desbaste deixando apenas uma planta em cada unidade experimental.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo os tratamentos constituídos: 1) Controle; 2) Inoculação; 3) 80 kg ha<sup>-1</sup> de N; 4) Inoculação + Ácido húmico; 5) Inoculação + 80 kg ha<sup>-1</sup> N e 6) Inoculação + 80 kg ha<sup>-1</sup> N + Ácido húmico.

As unidades experimentais foram compostas por vasos plásticos com capacidade de 6 dm<sup>3</sup>, preenchidos com solo seco ao ar. A umidade dos vasos foi controlada diariamente, através da sua pesagem, visando manter o solo com 60% da capacidade de campo. A irrigação foi feita com água destilada.

Na semeadura foram utilizadas sementes de milho BRS Caatingueiro, sendo previamente inoculadas com produto contendo uma combinação de duas estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), em inoculante com formulação líquida. A dose aplicada foi de 150 mL para cada 50 kg de sementes de feijão para o inoculante com formulação líquida.

Os ácidos húmicos foram extraídos e cedidos pelo Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal do Norte Fluminense - UENF, estabelecido em Campos dos Goytacazes, RJ, sendo estes isolados de vermicomposto. O material foi previamente dissolvido em água, na proporção de 50 mg L<sup>-1</sup>. A SH foi aplicada diretamente sobre as sementes, dentro de sacos plásticos, com uma pipeta volumétrica. Após a aplicação, os sacos plásticos foram fechados e agitados vigorosamente por dois minutos para uma distribuição homogênea do produto sobre as sementes.

Aos 30 dias após a emergência foram determinadas a altura de plantas, diâmetro do colmo, comprimento de raiz, volume de raiz, massa seca da parte aérea e massa seca de raiz.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2010).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) para altura de planta, diâmetro do colmo, comprimento de raiz e volume de raiz em resposta a inoculação com *Azospirillum brasilense* em associação com substâncias húmicas e nitrogênio (**Tabela 1**).

A altura de plantas e o diâmetro do colmo de milho apresentaram os maiores valores no tratamento correspondente à inoculação com *Azospirillum brasilense* em associação com ácidos húmicos, diferindo estatisticamente do controle (sem inoculação e sem N) (**Tabela 1**). Verificou-se um aumento na ordem de 40,74 e 16,63% na altura de plantas e diâmetro do colmo em relação ao controle. Cabe salientar que maior diâmetro do colmo está diretamente relacionado com o aumento da produção, uma vez que este é um órgão de reserva e atua no armazenamento de sólidos solúveis que serão utilizados posteriormente para a formação dos grãos (Fancelli & Dourado Neto, 2007).

A inoculação com *Azospirillum brasilense* em associação com ácidos húmicos influenciou o comprimento e o volume de raiz de plantas de milho (**Tabela 1**). Plantas inoculadas e que tiveram a aplicação de ácidos húmicos apresentaram incremento na ordem de 48,47% no comprimento de raiz e de 88,23% no volume de raiz em relação ao controle não inoculado, no entanto, não diferiram estatisticamente dos demais tratamentos. Os ácidos húmicos podem atuar no aumento da população de bactérias diazotróficas introduzidas no interior da planta e, conseqüentemente, no incremento dos efeitos benéficos sobre a planta hospedeira (Marques Júnior, 2006). Esse efeito de aumento no comprimento e no volume radicular se deve à produção de auxinas pelas bactérias, que estimulam o crescimento das raízes secundárias, aumentando assim a área específica de absorção de água e nutrientes pelas plantas (Radwan et al. 2004). Assim, com o aumento de raízes laterais ocasionado pela ação dos ácidos húmicos, as bactérias terão maiores sítios de entrada na plantas de milho, podendo então realizar maior fixação do nitrogênio. Concordante a essas explicações, Conceição et al. (2008), afirma que os ácidos húmicos promove aumento do crescimento vegetal pelo maior enraizamento e aumento do número de



sítios de mitose e emergência de raízes laterais, aumentando o número de pontos de infecção para as bactérias.

## CONCLUSÕES

A inoculação de *Azospirillum brasilense* em associação com a aplicação de ácidos húmicos promoveu aumento na altura de plantas, diâmetro do caule, comprimento e volume radicular.

REIS JÚNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 3:1139-1146, 2008.

## REFERÊNCIAS

ARAUJO, E.O; MERCANTE, F.M.; VITORINO, A.C.T.; PAIM, L.R. Inoculation of *Herbaspirillum seropedicae* in three corn genotypes under different nitrogen levels. *African Journal Agricultural Research*, 21:1628-1634, 2014.

CANELLAS, L. P.; BALMORI, D. M.; MÉDICI, L. O.; AGUIAR, N. O.; CAMPOSTRINI, E.; ROSA, R. C. C.; FAÇANHA, A. R.; OLIVARES, F. L. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). *Plant and Soil*, 366:119–132, 2013.

CERIGIOLI, M.M. Diversidade de bactérias endofíticas de raízes de milho (*ZeaMays* L.) e potencial para promoção de crescimento. 2006. 132f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

CONCEIÇÃO, P. M.; VIEIRA, H. D.; CANELLAS, L. P.; MARQUES JUNIOR, R. B.; OLIVARES, F. L. Recobrimento de sementes de milho com ácidos húmicos e bactérias diazotróficas endofíticas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 4:545-548, 2008.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. *Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas*. Londrina: Editora Planta, 2006. 403p.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. *Produção de feijão*. 2. ed. Piracicaba: Livro ceres, 2007. 386 p.

FERREIRA, D. F. *Sistema de análises de variância para dados balanceados*. Lavras: UFLA, 2000.

MARQUES JÚNIOR, R. B (2006). Potencial do uso combinado de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas para bio estimulação de plantas. Campos dos Goytacazes: UENF, 2006, 88p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2006.

RADWAN, T. E. S. E. D.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 10:987-994, 2004.



Tabela 1. Altura de plantas (ALT), diâmetro do colmo (DIA), comprimento de raiz (CR), volume radicular (VR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) de plantas de milho em resposta a inoculação com *Azospirillum brasilense* em associação com substâncias húmicas e nitrogênio. Colorado do Oeste, RO (2015).

Tratamentos	ALT (cm)	DIA (mm)	CR (cm)	VR (cm <sup>3</sup> /planta)	MSPA g	MSR
1. Controle	40,50 b	6,19 b	44,62 b	8,50 b	0,20	5,12
2. Inoculação	52,25 ab	6,62 b	48,75 ab	12,00 ab	0,60	5,29
3. 80 kg ha <sup>-1</sup> N	46,75 ab	6,03 b	57,00 ab	10,50 ab	0,41	5,20
4. Inoculação + ÁcidoHúmico	57,00 a	7,22 a	66,25 a	16,00 a	1,10	5,59
5. Inoculação + 80 kg ha <sup>-1</sup> N	55,62 ab	6,59 b	62,75 ab	11,25 ab	0,68	5,28
6. Inoculação + 80 kg ha <sup>-1</sup> N + Acido húmico	51,75 ab	6,94 b	55,12 ab	9,75 ab	0,71	5,29
Média	50,64	6,60	55,75	11,33	0,62	5,29
Teste F	0,03*	0,04*	0,01*	0,05*	0,15 <sup>NS</sup>	0,11 <sup>NS</sup>
CV (%)	13,43	15,73	14,24	26,88	71,30	4,04

\* e <sup>ns</sup> – significativo a 5% de probabilidade e não significativo, respectivamente. Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.