



***Azospirillum brasilense* associado a fertilizante nitrogenado no desenvolvimento de plantas de milho⁽¹⁾.**

Leandro Rampim⁽²⁾; Vandeir Francisco Guimarães⁽³⁾; Débora Kestring Klein⁽²⁾; Adriano Mitio Inagaki⁽⁴⁾; Aline Kelly Pomini Souza⁽⁴⁾; Luana Fernandes Tavares⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da CAPES/PNPD, CNPq, INCT-FBN, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Ensino Superior do Estado do Paraná, Fundação Araucária e à Unioeste/PPGA.

⁽²⁾ Pesquisador(a) Científico CAPES/PNPD, Centro de Ciências Agrárias, CCA, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste, Marechal Cândido Rondon, PR. E-mail: rampimleandro@yahoo.com.br; deborakestring@yahoo.com.br;

⁽³⁾ Prof. Associado do CCA, Unioeste, Bolsista em Produtividade em Pesquisa 2 do CNPq, Marechal Cândido Rondon, PR. E-mail: vandeirfg@yahoo.com.br;

⁽⁴⁾ Estudante de Pós-graduação, Unioeste, Marechal Cândido Rondon, PR. E-mail: mitioinagaki@gmail.com; alinepomini@msn.com;

⁽⁵⁾ Estudante de Pós-graduação, Unioeste, Marechal Cândido Rondon, PR. E-mail: luannaftavares@hotmail.com;

RESUMO: O uso de bactérias diazotróficas inoculadas em sementes de milho pode elevar absorção de nitrogênio do solo, podendo suprir parte do nitrogênio (N) demandado; tal fato pode potencializar efeitos na produtividade, a qual é definida na fase vegetativa da cultura. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* e N no desenvolvimento de plantas de milho nos estádios iniciais em condições de campo. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com seis tratamentos: ausência de adubação (0) + ausência de inoculação; ausência de adubação (0) + inoculação de sementes de milho híbrido DKB-240 VTPRO com *A. brasilense* (AbV5+AbV6 na proporção de 4 mL do inoculante para 1000 sementes); 50% da recomendação de N para a cultura de milho (60 kg ha⁻¹ N com ureia); 50% de N + inoculação; 100% de N (120 kg ha⁻¹ N); 100% de N + inoculação. As avaliações biométricas das plantas de milho foram realizadas através da coletada de cinco plantas por parcela experimental, caracterizadas pelo estágio fenológico V4, V7 e V10. Foi observado incremento no comprimento de raízes, volume de raiz e comprimento de parte aérea nos estádios iniciais com inoculação de *A. brasilense* em sementes de milho sem fertilização de N. O índice SPAD se destacou ao utilizar *A. brasilense* com aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N. A inoculação de *A. brasilense* juntamente com N aplicado com uréia incrementou número de folhas, acelerando o desenvolvimento das plantas de milho híbrido DKB-240 VTPRO.

Termos de indexação: bactéria fixadora de nitrogênio; bactéria promotora de crescimento vegetal; *Zea mays* L.

INTRODUÇÃO

A cultura do milho, para atingir produção satisfatória, se faz necessária à utilização de elevada quantidade de insumos, principalmente fertilizantes nitrogenados. Mas estes fatores acabam por onerar significativamente o cultivo, além de elevar o impacto ambiental.

O uso de bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Azospirillum*, pode ser uma alternativa para minimizar os custo com nitrogênio (Hungria, 2011) e o impacto ambiental causado por essa prática. Trabalhos mostram o efeito positivo da inoculação na cultura do milho (Dartora et al., 2013; Kappes et al., 2013).

O gênero *Azospirillum* vem sendo avaliado com frequência por apresentar diversas contribuições positivas junto a este grupo de plantas. Já foram relatados tanto aumento de produção de reguladores hormonais em plantas quanto para o próprio microrganismo, além da própria fixação biológica de nitrogênio (FBN) (Cassán et al., 2001; Baldani e Baldani, 2005).

Dentro deste contexto, o estado do Paraná vem se destacando por iniciativas em estudos que buscam compreender os processos e mecanismos ligados ao fornecimento de nitrogênio evidenciando a possibilidade de utilização de inoculantes com a presença das bactérias diazotróficas. Porém devido à elevada biodiversidade entre as cultivares de milho, é fundamental avaliar o comportamento das novas cultivares, principalmente em campo e nos primeiros estádios de desenvolvimento, sendo identificado por parâmetros biométricos, visto que nestes momentos pode ter menor disponibilidade de nitrogênio das aplicações à lanço até se tornarem disponíveis à absorção das raízes. Assim, estes experimentos podem fornecer informações essenciais na escolha de plantas responsivas a interação entre as bactérias.



Dessa forma, o seguinte trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da inoculação da bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense*, e doses de N no desenvolvimento inicial do sistema radicular e parte aérea de plantas de milho até estágio V10 do híbrido DKB-240 VTPRO, em condições de campo, em solo argiloso.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido na Estação Experimental “Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa”, pertencente ao Núcleo de estações experimentais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon – PR, localizado a 54°22'W, 26°46'S e altitude média de 420 metros.

O experimento foi executado a campo no período de março a abril de 2014, em sistema de plantio direto sobre palhada da cultura da soja em solo argiloso, classificado como Latossolo Vermelho Eutroférico.

Tratamentos e amostragens

O experimental utilizado foi em blocos casualizados com seis tratamentos e quatro repetições, totalizando 24 parcelas experimentais. O ensaio foi constituído dos seguintes tratamentos: 0 kg ha⁻¹ de nitrogênio (N), sem inoculação (testemunha); 0 kg ha⁻¹ de nitrogênio (N), com inoculação de sementes com inoculante líquido *Azospirillum brasilense* (estirpes AbV5 com 2x10⁸ UFC/mL); 50 % de N (60 kg ha⁻¹ de N); 50 % de N (60 kg ha⁻¹ de N) + inoculação; 100 % de N (120 kg ha⁻¹ de N); 100 % de N (120 kg ha⁻¹ de N) + inoculação de sementes de milho.

Cada parcela apresentou dimensão de cinco metros de comprimento por dois metros de largura, com quatro linhas com 0,5 m de espaçamento, sendo executado com semeadora de parcela.

A inoculação das sementes foi realizada utilizando inoculante comercial à base das estirpes de *A. brasilense* AbV5 na proporção de 4 mL do inoculante para 1000 sementes de milho. Da mesma forma, foram aplicados 4 mL para 1000 sementes de água para as sementes testemunhas. As sementes foram deixadas em descanso por 24 horas. O híbrido de milho utilizado foi o DKB-240 VTPRO. A adubação nitrogenada foi realizada a lanço com ureia, logo após a semeadura.

Para avaliação biométrica das plantas, foram coletadas cinco plantas por parcela experimental, caracterizadas pelo estágio fenológico V4, V7 e V10, 7, 14 e 28 dias após a emergência (DAE), respectivamente. Estas plantas foram levadas para o Laboratório de Fisiologia Vegetal, onde foi mensurado variáveis biométricas.

Aos 7 e 14 DAE foi avaliado número de raiz seminal (NR_{se}), comprimento de raiz seminal (CR_{se}, em cm), volume de raiz seminal (VR_{se}, em ml), número de raiz nodal (NR_{no}), comprimento de raiz nodal (CR_{no}, em cm), volume de raiz nodal (VR_{no}, em ml), volume de raiz total (VR_{total}, em ml), número de raiz total (NR_{total}), comprimento da parte aérea (CPA, em cm), comprimento total (CT, em cm), número de folhas (NF), área foliar (AF, em cm²), índice SPAD (SPAD), diâmetro de colmo (DC, em mm), massa seca da raiz seminal (MSR_{se}, em g), massa seca da raiz nodal (MSR_{no}, em g), massa seca da raiz total (MSR_{total}, em g), massa seca das folhas (MSF, em g), massa seca de colmo (MSC, em g), massa seca de parte aérea (MSPA, em g) e massa seca total (MST, em g).

Aos 28 DAE foi avaliado o comprimento de raiz total (CR_{total}, em cm) e as variáveis VR_{total}, NR_{total}, CPA, NF, AF, SPAD, DC, MSR_{total}, MSF, MSC, MSPA, e MST. MST, tanto aos 7, 14 quanto aos 28 DAE é a soma de MSR_{total} + MSPA).

Análise estatística

A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa Sisvar, de modo que os dados foram submetidos à análise de variância e, no caso de efeito significativo, utilizou-se o teste Tukey a 5% de probabilidade para diferenciação das médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar as variáveis no estágio fenológico V4, V7 e V10 foram observados apenas efeito significativo para as variáveis comprimento de raiz nodal, volume de raízes nodal e total, número de folhas, índice SPAD e comprimento de parte aérea (p<0,05) ao testar uso de *A. brasilense* e adubação nitrogenada na cultura de milho (**Figura 1 e 2**). Para as demais variáveis, não foram encontrados efeito significativo.

Foi verificado em V4 destaque para comprimento das raízes nodais ao utilizar *A. brasilense* na dose de 0 % de N em relação a testemunha, relacionado com promoção de crescimento radicular proporcionado pela inoculação (Ferlini, 2006; Dartora et al., 2013), também observado no volume de raiz nodal e total e comprimento de parte aérea em V7, além de destaque no número de folhas em V10.

Ainda no estágio V4, para as doses de 50% e 100% não foi pronunciado esse efeito, possivelmente pela maior presença de nutriente próximo a raiz aplicado na semeadura, o que fez com que a planta não necessite-se explorar o solo em busca de nutrientes. Com água das chuvas,



nitrogênio aplicado fica disponível às plantas, favorecendo a absorção deste nutriente (Araujo et al., 2005), não sendo necessário crescimento acentuado das raízes em busca de N. Contudo, tal condição é importante, no tratamento com ausência de N, potencializando efeitos da inoculação.

A maior média obtida na dose de 100% de N, está ligado a participação efetiva desse nutriente na formação da clorofila (Taiz & Zeiger, 2013), aumentando-a e conseqüentemente potencializando a atividade fotossintética. Provavelmente, efeitos da dose de 100% repercutiu no volume de raiz nodal e total, além do comprimento de parte aérea em relação aos demais tratamentos, devido à importância do N nas gramíneas, demandado para formação de aminoácidos, proteínas e clorofila.

De fato, o índice SPAD se destacou para uso de 50% de N + inoculação com *A. brasilense* em relação ao uso isolado de nitrogênio. O aumento no índice SPAD, segundo Leonardo et al. (2013), está relacionado ao aumento no teor de clorofila das folhas, caracterizado pelo aumento no esverdeamento das folhas. Sobretudo, a inoculação de *A. brasilense* com dose de 100% reduziu o efeito nestas variáveis em V7; porém em V10, o número de folhas de 100% de N com inoculação se destacou em relação a 100% de N isolado.

Para número de folhas, também houve destaque para 50% de N com inoculação em relação aos demais tratamentos. O efeito semelhante entre a dose de 50% de N, pode estar associada ao efeito do *Azospirillum brasilense*, atuante na fixação biológica de nitrogênio e promoção de crescimento (Döbereiner, 1989).

Os valores de SPAD encontrados nesse trabalho para a dose de 100% de N, são confirmados por Leonardo et al. (2013) ao estudarem doses crescentes N na forma de ureia. Andreazza et al. (2013), ao estudar a inoculação com bactérias diazotróficas, verificaram aumento no índice SPAD, não diferindo da adubação mineral na cultura do arroz irrigado.

CONCLUSÕES

Há incremento no comprimento de raízes nodais em V4, volume de raiz nodal, volume de raiz total e comprimento de parte aérea em V7 com inoculação de *A. brasilense* em sementes de milho sem fertilizante nitrogenado.

O índice SPAD se destaca ao utilizar *A. brasilense* em sementes de milho híbrido DKB-240 VTPRO em Latossolo Vermelho Eutroférico em conjunto com aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N em relação a ausência de inoculação em V4, V7 e V10.

Cultivo de milho híbrido DKB-240 VTPRO com 60 kg ha⁻¹ de N e *A. brasilense* tem desenvolvimento da cultura mais evidente que nitrogênio isolado.

O incremento do desenvolvimento inicial da cultura de milho com *A. brasilense* favorece elevação da produtividade de grãos, por suprir demanda de nitrogênio e com promoção de crescimento nas variáveis biométricas avaliadas, favorecendo espiga com maior potencial produtivo.

AGRADECIMENTOS

À CAPES/PNPD, ao CNPq, ao INCT-FBN, à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Ensino Superior do Estado do Paraná, à Fundação Araucária e à Unioeste/PPGA, pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- ANDREAZZA, R.; KUSS, A. V.; ANTONIOLLI, Z. I.; JACQUES, R. J. S.; SANTOS M. L.; KÖNIG F. & DAHMER, S. F. B. Bactérias diazotróficas e vermicomposto como fontes alternativas de n para o arroz irrigado. *Ciência e Natura*, 35:15–23, 2013.
- ARAÚJO, A. S. F.; TEIXEIRA, G. M.; CAMPOS, A. X.; SILVA F. C., AMBROSANO, E. J. & TRIVELIN, P. C. O. Utilização de nitrogênio pelo trigo cultivado em solo fertilizado com adubo verde (*Crotalaria juncea*) e/ou uréia. *Ciência Rural*, 35:284-289, 2005.
- BALDANI, J. I. & BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 77:549-579, 2005.
- CASSÂN, F. *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferu* hydrolyse conjugates of GA 20 and metabolize the resultant aglycones to GA1 in seedlings of rice dwarf mutants. *Plant Physiology*, 125:2053-2058, 2001.
- DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D. & SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 17:1023-1029, 2013.
- DÖBEREINER J. Avanços recentes na pesquisa em fixação biológica de nitrogênio no Brasil. *Estudos Avançados*, 4:144-152, 1989.
- FERLINI, H. A. Co-inoculación en soja (*Glycyne max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*. Santa Fé, Engormix, 6p. 2006.
- HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; DAL BEM, E. A.; PORTUGAL, J. R. & VILELA, R. G. Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. *Semina: Ciências Agrárias*, 34:527-538, 2013.

LEONARDO, F. A. P.; PEREIRA, W. E.; SILVA, S. D. E. M.; PEREIRA, J. & COSTA, D. A. Teor de clorofila e índice SPAD no abacaxizeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35:377-383, 2013.

Taiz L. & Zeiger E. *Fisiologia Vegetal*. (Artmed, Ed.). Porto Alegre. 2013. 918p.

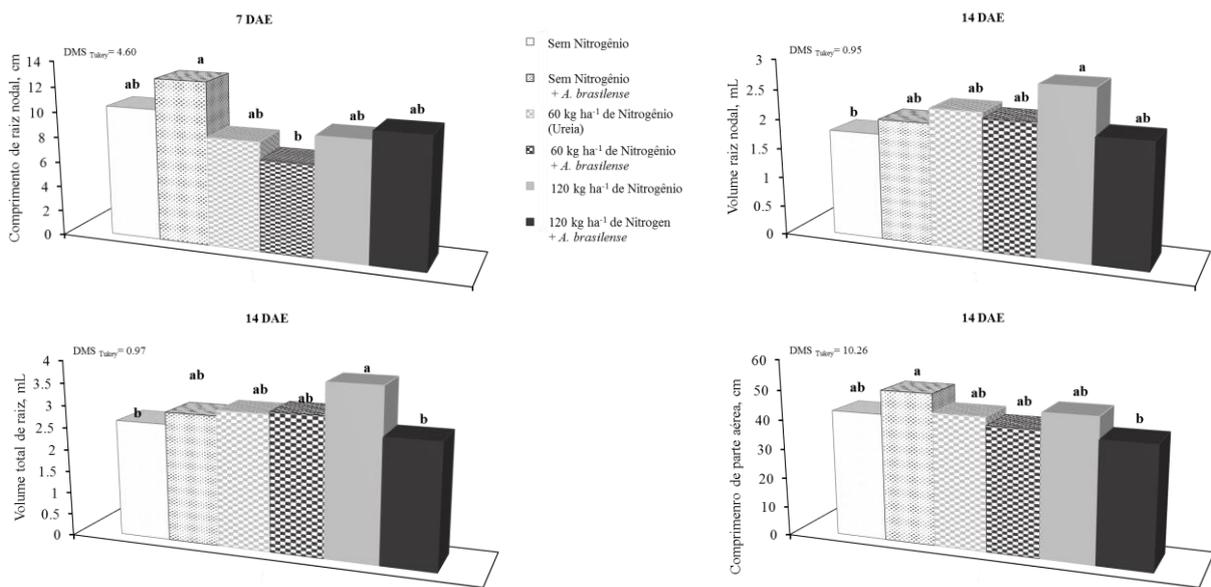


Figura 1. Comprimento de raiz nodal (C_RN) avaliada sete dias após emergência (DAE), volume de raiz nodal (V_RN), volume total de raiz (VT_R) e comprimento de parte aérea (C_PA) aos 14 DAE de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a fertilizante nitrogenado.

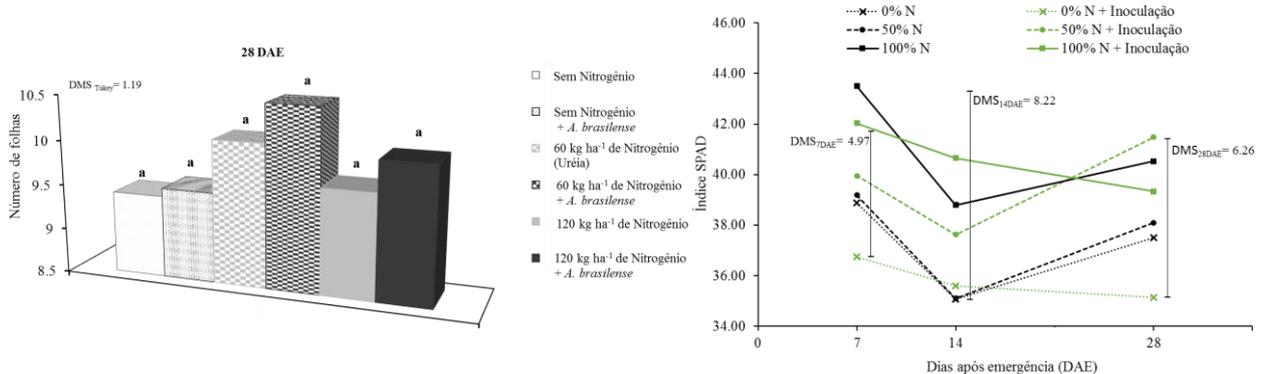


Figura 2. Número de folhas (NF) aos 28 DAE e índice SPAD em folhas avaliadas aos sete, 14 e 28 DAE de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a fertilizante nitrogenado.