



## Eficiência de utilização do N por plantas de milho inoculadas de bactérias diazotróficas em associação com substâncias húmicas<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;<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; leandro.matte@ifro.edu.br.

**RESUMO:** O objetivo desta pesquisa foi quantificar a eficiência de absorção e utilização do nitrogênio em resposta a inoculação de bactérias diazotróficas em associação com ácidos húmicos e nitrogênio na cultura do milho. 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 estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), em inoculante com formulação líquida. Os ácidos húmicos foram aplicados diretamente nas sementes. Aos 30 dias após a emergência foram determinados os teores de N nas diferentes partes da planta, bem como, os índices de eficiência de absorção, transporte e utilização do nitrogênio. A inoculação de *Azospirillum brasilense* acrescido de 80 kg ha<sup>-1</sup> N e ácidos húmicos aumentou a eficiência de utilização do nitrogênio por plantas de milho em 60%, enquanto que a inoculação de *A. brasilense* acrescido de 80 kg ha<sup>-1</sup> de N aumentou o teor de N na parte aérea das plantas de milho.

**Termos de indexação:** *Azospirillum brasilense*; Ácidos húmicos; nutrição de plantas.

### INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa a terceira posição no ranking em produção de grãos de milho, sendo superado apenas por EUA e China. A estimativa de área plantada com milho na safra 2014/2015 será de 15.769 milhões de hectares com uma produção de 78.554 milhões de toneladas de milho (CONAB, 2015). 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.

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). Contudo, o sucesso da aplicação de ácidos húmicos e bactérias diazotróficas em milho representam um potencial que colabora para quebrar o paradigma atual de consumo energético baseado em fontes fósseis insustentáveis.

Diante do exposto, objetivou-se com o presente trabalho quantificar a eficiência de absorção e utilização do nitrogênio em resposta a inoculação de bactérias diazotróficas em associação com ácidos húmicos e nitrogênio na cultura do milho.

### 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. O solo utilizado neste estudo foi classificado como Argissolo Vermelho-amarelo (EMBRAPA, 2013). A análise química do solo na profundidade de 0-20 cm realizada 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. A adubação nitrogenada foi realizada na dose de  $80 \text{ kg ha}^{-1}$  de N, na forma de ureia (45%), aplicados  $40 \text{ kg ha}^{-1}$  de N na semeadura e  $40 \text{ kg ha}^{-1}$  de N, em cobertura, aos 15 DAE.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo os tratamentos constituídos: 1) Controle; 2) Inoculação; 3)  $80 \text{ kg ha}^{-1}$  de N; 4) Inoculação + Ácido húmico; 5) Inoculação +  $80 \text{ kg ha}^{-1}$  N e 6) Inoculação +  $80 \text{ kg ha}^{-1}$  N + Ácido húmico.

As unidades experimentais foram compostas por vasos plásticos com capacidade de  $6 \text{ dm}^3$ . As sementes foram postas a germinar diretamente nos vasos, sendo, que aos oito DAE, realizou-se o desbaste deixando apenas uma planta em cada unidade experimental. A umidade dos vasos foi controlada diariamente, através da sua pesagem, visando manter o solo com 60% da capacidade de campo.

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, sendo estes isolados de vermicomposto. O material foi previamente dissolvido em água, na proporção de  $50 \text{ mg L}^{-1}$ . 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 as plantas foram coletadas e divididas em raiz e parte aérea. Todo o material vegetal coletado foi lavado em água corrente e água deionizada. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de  $65^\circ\text{C}$ , por 72 horas. Após a secagem, procedeu à pesagem e moagem da massa seca, sendo as amostras, submetidas à digestão sulfúrica, para determinação do teor de N na diferentes partes da planta (raiz e parte aérea), de acordo com a metodologia descrita em Embrapa (2009).

O índice de eficiência de absorção foi calculado de acordo com Swiaderet al. (1994), enquanto que o índice de utilização e transporte do nitrogênio foi

calculado de acordo com Siddiqi e Glass (1981).

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.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de N na parte aérea, teor de N na planta e o conteúdo de N na raiz foram superiores no tratamento inoculado acrescido de  $80 \text{ kg ha}^{-1}$  N, não diferindo estatisticamente do tratamento controle e daqueles inoculados e inoculados + ácidos húmicos (Tabela 1). Deve-se salientar que em gramíneas comumente é verificada uma maior contribuição da inoculação associada à adubação nitrogenada. Segundo Baldaniet al. (1996), a inoculação de bactérias diazotróficas na presença de pequenas doses de N mostra-se mais eficiente para o sistema planta/bactéria quando comparada com o uso isolado da bactéria. Isso se deve ao fato de que a riqueza de compostos orgânicos excretados, depositados e/ou exsudados na rizosfera pela planta na presença de pequenas doses N produz intensas atividades e interações microbianas que permitem essas bactérias efetuarem a colonização, ou seja, permite a emissão de sinais aos microrganismos. Corroborando com os resultados encontrados neste estudo, Dobbelaereet al. (2002) verificaram que o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense*, estirpe Sp 245, e *Azospirillum irakense* estirpe KBC1 foi maior quando associado às doses de nitrogênio. Araújo et al. (2014) observaram que a inoculação da estirpe Z-94 de *H. seropedicae* acrescida de  $80 \text{ kg ha}^{-1}$  de N proporcionou um aumento no teor de N na parte aérea de plantas de milho.

A eficiência de utilização do N aumentou na ordem de 60% com a inoculação de *Azospirillum brasilense* acrescidos de  $80 \text{ kg ha}^{-1}$  N e aplicação de ácidos húmicos em relação ao controle (Tabela 2), ficando evidentes os efeitos benéficos da bactéria na assimilação de nitrogênio pelas plantas de milho quando associadas a substâncias húmicas e pequenas doses de N. Dados semelhantes foram obtidos por Dobbelaereet al. (2001) e Araújo et al., (2014), ao trabalharem com bactérias do gênero *Azospirillum* e *Herbaspirillum* em plantas de milho. Estes autores relatam que o maior teor de N nas plantas inoculadas é resultado tanto da FBN, quanto dos mecanismos de promoção do crescimento radicular, que podem incrementar a capacidade das plantas em absorver este nutriente.



## CONCLUSÕES

A inoculação de *Azospirillum brasilense* acrescido de 80 kg ha<sup>-1</sup> N e ácidos húmicos aumentou a eficiência de utilização do nitrogênio por plantas de milho em 60%, enquanto que a inoculação de *A. brasilense* acrescido de 80 kg ha<sup>-1</sup> de N aumentou o teor de N na parte aérea das plantas de milho.

## 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, v.9, n.21, p. 1628-1634, 2014.

BALDANI, J. I.; POT, B.; KIRCHHOF, G.; FALSEN, E.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; HARTMANN, A.; GILLIS, M.; DOBEREINER, J. Emended description of *Herbaspirillum*, inclusion of "*Pseudomonas rubrisubalbicans*, a mild plant pathogen as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov. and classification of a group of clinical isolates (EF group 1) as *Herbaspirillum* species 3. International Journal of Systematic Bacteriology, v. 46, n.3, p. 802-810, 1996.

CONAB. 2015. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2014/2015: Sétimo Levantamento, Abril/2015, Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília, CONAB, 105p.

DOBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; TRYSS, A.; PTACEK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum irakense* strain on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. Biology and Fertility of Soils, v. 36, n.4, p. 284-297, 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2. Ed, Brasília., Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

MARQUES JÚNIOR, R. B (2006). Potencial do uso combinado de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas para bioestimulação 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.

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, v. 32, n.3, p. 1139-1146, 2008.

SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. Journal of Plant Nutrition, v. 4, n.3, p. 289-302, 1981.

SWIADER, J. M. CHYAN, Y.; FREIJI, F. G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. Journal of Plant Nutrition, v.17, n.10, p.1687-1699, 1994.

Tabela 2. Eficiência de absorção (EAN), eficiência de transporte (ETN) e eficiência de utilização do nitrogênio (EUN) por plantas de milho em resposta a inoculação com *Azospirillum brasilense* em associação com substâncias húmicas e nitrogênio. Colorado do Oeste, RO (2015).

Tratamentos	EAN (mg g <sup>-1</sup> )	ETN (%)	EUN (mg g <sup>-1</sup> )
1. Controle	58,39	5,49	0,10 b
2. Inoculação	60,40	7,09	0,11 ab
3. 80 kg ha <sup>-1</sup> N	61,39	8,42	0,09 b
4. Inoculação + Ácido Húmico	56,82	9,60	0,14 ab
5. Inoculação + 80 kg ha <sup>-1</sup> N	55,11	6,96	0,12 ab
6. Inoculação + 80 kg ha <sup>-1</sup> N + Ácido húmico	44,26	6,00	0,16 a
Média	56,06	7,26	0,12
Teste F	0,17	0,12	0,00*
CV (%)	16,51	52,16	17,57

\* 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.



Tabela 1. Teor de nitrogênio na parte aérea (TNPA), teor de nitrogênio na raiz (TNR), teor de nitrogênio na planta (TNPL), conteúdo de nitrogênio na parte aérea (CNPA), conteúdo de nitrogênio na raiz (CNR) e conteúdo de nitrogênio na planta (CNPL) de milho em resposta a inoculação com *Azospirillum brasilense* em associação com substâncias húmicas e nitrogênio. Colorado do Oeste, RO (2015).

Tratamentos	TNPA	TNR	TNPL	CNPA	CNR	CNPL
	(g kg <sup>-1</sup> )	(g kg <sup>-1</sup> )	(g kg <sup>-1</sup> )	(mg)		
1. Controle	39,40 ab	14,80	53,97 ab	16,52	77,89 b	298,94
2. Inoculação	37,35 ab	15,40	53,77 ab	24,81	78,35 b	319,90
3. 80 kg ha <sup>-1</sup> N	30,65 abc	19,22	48,85 ab	20,69	101,45 a	319,42
4. Inoculação + ÁcidoHúmico	29,30 ab	17,42	47,42 ab	32,29	97,37 ab	318,66
5. Inoculação + 80 kg ha <sup>-1</sup> N	39,65 a	20,27	59,12 a	18,16	105,19 a	291,59
6. Inoculação + 80 kg ha <sup>-1</sup> N + Acido húmico	24,67 c	18,95	39,00 b	14,74	99,96 ab	234,33
Média	33,48	17,67	50,35	21,20	93,37 ab	297,14
Teste F	0,09*	0,12	0,01*	0,23	0,04*	0,19
CV (%)	13,33	17,18	13,83	69,15	14,95	17,05

\* 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.