



## **Índice de Clorofila foliar e acúmulo de matéria seca de plantas de milho inoculadas ou não com *Azospirillum brasilense***

**Poliana Aparecida Leonel Rosa<sup>(1)</sup>; Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho<sup>(2)</sup>; Fernando Shintate Galindo<sup>(3)</sup>; Murilo Augusto Sgobi<sup>(4)</sup>; João Leonardo Miranda Berlote<sup>(5)</sup>; Lais Meneghini Nogueira<sup>(6)</sup>**

(1), (3), (4), (6) Pós-graduandos em Agronomia-Sistema de Produção; Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; Ilha Solteira, São Paulo; polirosa1@hotmail.com.

(2) Professor Assistente Doutor do Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos (DEFERS); Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

(5) Graduando em Agronomia; Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

**RESUMO:** O milho é uma das principais culturas de importância econômica em nosso país, onde são necessárias grandes quantidades de nitrogênio para suprir o teor existente no solo e elevar sua produtividade; e uma alternativa que pode aumentar a disponibilidade de N para planta, e reduzir a utilização de fertilizantes nitrogenados nessa cultura é a inoculação de bactérias diazotróficas. O objetivo do trabalho foi avaliar o índice de clorofila foliar (ICF) e acúmulo de matéria seca de dois híbridos de milho inoculados ou não com *Azospirillum brasilense*. O experimento foi conduzido no município de Selvíria/MS durante o ano agrícola 2014/15, em um Latossolo Vermelho Distrófico típico argiloso. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com quatro repetições, dispostos em esquema fatorial 2x2, sendo dois híbridos de milho (o híbrido simples DKB 390 VT PRO e o híbrido triplo DKB 350 VT PRO) com ou sem inoculação da semente com *Azospirillum brasilense* (200 ml ha<sup>-1</sup>). Os híbridos foram semeados no espaçamento de 0,45 metros entrelinhas. Foram avaliados o índice de clorofila foliar (ICF) e o acúmulo de matéria seca da raiz, da parte vegetativa e reprodutiva das plantas, no estágio R1 (florescimento-50 DAE). O híbrido simples DKB 390 VT PRO obteve maior ICF e massa seca da parte vegetativa no estágio R1, quando comparado ao híbrido triplo DKB 350 VT PRO, tanto na presença quanto na ausência de inoculação. Porém, o ICF foi superior no híbrido DKB 350 VT PRO quando este foi inoculado com *Azospirillum brasilense*, indicando que este híbrido teve melhor potencial de associação com esta bactéria.

**Termos de indexação:** bactéria diazotrófica, nitrogênio, *Zea mays*.

### **INTRODUÇÃO**

O milho é uma das principais culturas de importância econômica em nosso país. Um dos diversos fatores que exercem influência significativa no acúmulo de matéria seca na planta além da área e arquitetura foliar do cultivar, dinâmica das trocas gasosas, intensidade e qualidade da luz incidente, é o teor de clorofila foliar ou ICF (Monteith, 1996). O nutriente que apresenta efeitos mais significativos no aumento da produtividade do milho é o nitrogênio (N), pois é constituinte de várias moléculas de proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucleicos e citocromos, e tem função importante como integrante da molécula de clorofila (Bull, 1993).

São necessárias grandes quantidades de nitrogênio para suprir o teor existente no solo e elevar a produtividade dessa cultura. Os fertilizantes nitrogenados além de ser um dos insumos que mais oneram o custo de produção, também contribuem para a poluição ambiental, principalmente quando aplicados em altas doses e em condições de precipitação pluvial intensa. Devido a essas desvantagens, almeja-se encontrar alternativas para reduzir o uso desses fertilizantes.

Uma alternativa biotecnológica sustentável que está sendo testada é a inoculação de microrganismos como bactérias diazotróficas que podem aumentar a disponibilidade de N à planta, além de produzirem auxinas, substâncias responsáveis pelo estímulo ao crescimento das plantas, podendo dessa forma reduzir a utilização de fertilizantes nitrogenados na cultura do milho (Reis, 2006). De acordo com Quadros (2009) é possível que o genótipo da planta desempenhe papel essencial na colonização das bactérias, existindo cultivares com alto e baixo potencial de associação com as mesmas. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o índice de clorofila foliar (ICF) e acúmulo de matéria seca de dois híbridos de milho inoculados ou não com *Azospirillum brasilense*.



## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia – UNESP, Campus de Ilha Solteira, localizada no município de Selvíria-MS. As coordenadas geográficas são 20°20' de latitude S e 51° 24' longitude W, com altitude de 350 metros.

O solo da área experimental foi classificado como um Latossolo Vermelho Distrófico típico argiloso (Embrapa, 2013), o qual foi cultivado por culturas anuais há mais de 28 anos, sendo os últimos 10 anos em sistema de plantio direto, e a cultura anterior ao milho foi o trigo. O tipo climático da região é Aw conforme a classificação de Köppen, caracterizada como tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno. A precipitação média anual é de 1370 mm, a temperatura média anual é de 23,5° C e a umidade relativa do ar está entre 70 e 80% (média anual).

Os atributos químicos do solo na camada arável determinados antes da instalação do experimento, segundo metodologia descrita por Raij et al. (2001) apresentaram os seguintes resultados: 23 mg dm<sup>-3</sup> de P (resina); 6 mg dm<sup>-3</sup> de S-SO<sub>4</sub>; 23 g dm<sup>-3</sup> de MO; 5,2 de pH (CaCl<sub>2</sub>); K, Ca, Mg, H+Al = 3,2; 27,0; 18,0 e 38,0 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, respectivamente; Cu, Fe, Mn, Zn (DTPA) = 5,9; 30,0; 93,9 e 1,3 mg dm<sup>-3</sup>, respectivamente; 0,21 mg dm<sup>-3</sup> de B (água quente) e 56% de saturação por bases.

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com quatro tratamentos e quatro repetições, dispostos em esquema fatorial 2x2, sendo: dois híbridos de milho com ou sem inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. As parcelas foram constituídas de sete linhas de 20 m de comprimento, sendo considerada como área útil as quatro linhas centrais.

Foi utilizado o híbrido simples DKB 390 VT PRO, de ciclo precoce e grão semi-duro amarelo-alaranjado, e o híbrido triplo DKB 350 VT PRO, de ciclo precoce e grão duro alaranjado. As sementes foram inoculadas no momento da semeadura utilizando o inoculante AzoTotal® com as estirpes AbV5 e AbV6 de *A. brasilense* (2x10<sup>8</sup> células viáveis mL<sup>-1</sup>) na dose de 200 mL ha<sup>-1</sup>. A dessecação da área foi realizada com os herbicidas glifosato (1800 g ha<sup>-1</sup> do i.a.) e 2,4-D (670 g ha<sup>-1</sup> do i.a.), em seguida, procedeu-se a desintegração mecânica com triton. Após 10 dias, a semeadura mecânica foi realizada no dia 02/12/2014, com espaçamento de 0,45 m entrelinhas e adubação no sulco de semeadura com 400 kg ha<sup>-1</sup> da formulação 08-28-16.

A adubação nitrogenada de cobertura foi realizada quando as plantas se encontravam no estágio de desenvolvimento V4 (quatro folhas

totalmente expandidas), tendo como fonte a ureia, na dose de 150 kg ha<sup>-1</sup> a qual foi estabelecida com base na produtividade esperada e pesquisas realizadas anteriormente nestas mesmas condições edafoclimáticas.

O manejo de plantas daninhas foi efetuado com a aplicação do herbicida tembotriona (84 g ha<sup>-1</sup> do i.a.) e atrazina (1000 g ha<sup>-1</sup> do i.a.), mais a adição de um adjuvante na calda herbicida. A irrigação foi efetuada sempre que necessária através de um sistema de pivô central, com lâmina de água calculada com base nas condições climáticas locais e estádios fenológicos da cultura.

Foi realizada a estimativa do índice de clorofila foliar (ICF) por ocasião do florescimento, ou seja, no estágio R1 (50 DAE), com a utilização do clorofilômetro portátil (modelo Falker), sendo realizadas leituras no terço médio de cinco folhas abaixo da espiga principal (folha diagnose). Nesse mesmo estágio fenológico (R1) foi avaliada a massa de matéria seca das plantas, onde foram coletadas três plantas por parcela, e separadas os órgãos vegetativos (folhas + colmo = MSPV), os órgãos reprodutivos (espigas + pendão = MSPR) e sistema radicular das mesmas (MSRaiz). Em seguida este material foi levado para estufa com temperatura de 65°C e retirado após sete dias para a obtenção das massas seca propostas acima. Os resultados foram submetidos ao teste F da análise de variância, comparando-se as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa computacional Sisvar (Ferreira, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa seca da parte vegetativa diferiu apenas entre os híbridos, sendo a MSPV superior para o DKB 390 PRO. Isto pode ser explicado pelo fato deste híbrido ser simples, portanto apresenta maior heterose, ou seja, é superior em vigor híbrido que o outro híbrido que é triplo. A massa seca de raiz (MSRaiz) e a massa seca da parte reprodutiva (MSPR) no estágio R1, não foram influenciadas pelos híbridos e pela inoculação com *Azospirillum brasilense*. Uma possível explicação para esse ocorrido seria a planta ter acumulado reservas que foram direcionadas mais intensivamente para seu desenvolvimento vegetativo, resultando num sistema radicular e parte reprodutiva menos volumosos, e parte vegetativa mais desenvolvida. Esses resultados corroboram com Quadros (2009) que também observou incremento na MSPV de plantas de milho inoculadas com *Azospirillum spp.*, afirmando que o genótipo do híbrido influencia na associação entre as bactérias e as plantas, assim como ocorrido neste trabalho. A maior massa seca



nestas plantas inoculadas possivelmente seja devido à produção de substâncias promotoras de crescimento pelas bactérias e ao fornecimento de N para plantas.

A massa seca total no estádio R1 do híbrido DKB 390 PRO, que atingiu maior produtividade foi de 13.336 kg ha<sup>-1</sup> (sendo 10.340 kg ou 77% de MSPV + 1.552 kg ou 12% de MSPR + 1.444 kg ou 11% de MSRaiz). A massa seca total do DKB 350 PRO foi de 10.714 kg ha<sup>-1</sup> (sendo 7.822 kg ou 73% de MSPV + 1.801 kg ou 17% de MSPR + 1.091 kg ou 10% de MSRaiz).

Para o ICF houve interação significativa entre híbridos de milho e inoculação com *Azospirillum brasilense* (**Tabela 1**). O desdobramento da interação dos fatores híbrido e inoculação para o ICF no estádio R1 apresenta-se na **tabela 2**. Observa-se que, tanto na presença quanto na ausência de inoculação o híbrido DKB 390 PRO obteve maior ICF. O híbrido DKB 350 PRO obteve maior ICF quando inoculado, enquanto que, o ICF do híbrido DKB 390 PRO não foi influenciado pela inoculação.

O ICF se correlaciona positivamente com o teor de N na planta, e com a produtividade da cultura do milho (Smeal & Zhang, 1994). Isso é atribuído, principalmente, ao fato de que 50 a 70 % do N total da folha ser integrante de enzimas que estão associadas aos cloroplastos (Chapman & Barreto, 1997).

## CONCLUSÕES

O híbrido simples DKB 390 VT PRO obteve maior ICF e massa seca da parte vegetativa no estádio R1, quando comparado ao híbrido triplo DKB 350 VT PRO, tanto na presença quanto na ausência de inoculação.

O ICF foi superior no híbrido DKB 350 VT PRO quando este foi inoculado com *Azospirillum brasilense*, indicando que este híbrido teve melhor potencial de associação com esta bactéria.

## REFERÊNCIAS

BULL, L. T. Nutrição mineral do milho. In: BULL, L. T.; CANTARELLA, H., ed. Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: POTAFOS, 1993. p. 63-145.

CHAPMAN, S.C. & BARRETO, H.J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. *Agronomy Journal*, 89:557-562, 1997.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 3. ed. Brasília: EMBRAPA, 2013. 353p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 35:1039-1042, 2011.

MONTEITH, J. L. The photosynthesis and transpiration of crop. *Experimental Agriculture*, 2:1-14, 1996.

QUADROS, P. D. Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul. 2009. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: IAC, 2001. 285p.

REIS, V.M. Inoculantes contendo bactérias fixadoras de nitrogênio para aplicação em gramíneas. In: FERTBIO, 2006. Anais. Bonito: SBCS, 2006. CD-ROM.

SMEAL, D.; ZHANG, H. Chlorophyll meter evaluation for nitrogen management in corn. *Communications in Soil Science and Plant Analyses*, 25:1495-1503, 1994.



**Tabela 1.** Valores médios de massa seca da raiz (MSRaiz), massa seca da parte vegetativa (MSPV) e massa seca da parte reprodutiva (MSPR), massa seca total (MS Total) e índice de clorofila foliar (ICF) de plantas de milho, em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e dos diferentes híbridos. Selvíria – MS, safra 2014/15.

	MSRaiz <sup>#</sup>	MSPV	MSPR <sup>#</sup>	ICF
	------(kg ha <sup>-1</sup> )-----			
<b>Híbridos</b>				
DKB 350 PRO	1091 a	7822 b	1801 a	66,79
DKB 390 PRO	1444 a	10340 a	1552 a	91,82
DMS (5%)	676	1788	1033	3,08
<b>Inoculação</b>				
Com	1391 a	8743 a	1540 a	82,54
Sem	1144 a	9419 a	1813 a	76,06
DMS (5%)	676	1788	1033	3,08
<b>Teste F</b>				
Híbridos (H)	1,64 <sup>NS</sup>	11,87*	0,35 <sup>NS</sup>	394,65**
Inoculação (I)	0,80 <sup>NS</sup>	0,86 <sup>NS</sup>	0,42 <sup>NS</sup>	26,44**
H x I	0,24 <sup>NS</sup>	2,01 <sup>NS</sup>	0,28 <sup>NS</sup>	53,85**
<b>Média geral</b>	1267	9081	1677	79,30
<b>CV%</b>	18,00	13,94	21,17	2,75

\*\* e \* – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente e <sup>NS</sup> – não significativo; Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>#</sup> Dados transformados pela equação  $(X+0,5)^{0,5}$ .

**Tabela 2.** Desdobramento da interação híbrido e inoculação com *A. brasilense*, da análise de variância referente ao índice de clorofila foliar (ICF) das plantas de milho. Selvíria – MS, safra 2014/15.

<b>Híbridos</b>	<b>Inoculação</b>	
	Com	Sem
DKB 350 PRO	74,65 bA	58,93 bB
DKB 390 PRO	90,43 aA	93,20 aA
DMS (5%)		4,36

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.