



DESEMPENHO INICIAL DO MILHO EM RESPOSTA A APLICAÇÃO DE ÁCIDOS HÚMICOS E BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ENDOFÍTICAS ⁽¹⁾.

Raphael Oliveira de Melo⁽²⁾; Hend Pereira de Oliveira⁽²⁾; Lílian Estrela Borges Baldotto⁽³⁾; Maribus Atoé Baldotto⁽³⁾; Débora Durães Almeida⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da Fundação de Amparo da Pesquisa (FAPEMIG), processo (APQ-02395-10), CNPq e FUNARBE.

⁽²⁾ Estudante de Graduação em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa – *Campus Florestal* Rodovia LMG 818, km 6, Florestal- MG, CEP 35690-000, raphael.o.melo@ufv.br ; ⁽³⁾ Professor (a) da Universidade Federal de Viçosa – *Campus de Florestal*; ⁽⁴⁾ Técnica de laboratório da da Universidade Federal de Viçosa – *Campus de Florestal*

RESUMO:

O milho é cultivado em todo o país, produzindo quantidades variáveis conforme o investimento em tecnologia. Dentre essas tecnologias, destaca-se o uso de sementes melhoradas, associadas com adequado manejo integrado dos fatores de produção, tais como a correção e fertilização dos solos, a irrigação, o controle fitossanitário e de competidores e, mais recentemente, o uso de inoculantes. O objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial do uso de ácidos húmicos AH e bactérias diazotróficas endofíticas como insumo agrícola, assim foi instalado um experimento com milho em casa de vegetação. Os tratamentos utilizados foram basicamente quatro: 1) controle, 2) bactéria, 3) ácidos húmicos (AH); e 4) bactéria com AH. Os tratamentos foram aplicados via tratamentos de semente, ao final do experimento (45 dias após a germinação), as plantas foram avaliadas biometricamente e nutricionalmente. Os resultados demonstraram que é possível combinar o efeito dos ácidos húmicos (AH) com a inoculação de estirpes selecionadas de bactérias diazotróficas endofíticas com vias a obtenção de respostas superiores à aplicação isolada de ambos. A adição de ácidos húmicos (AH), a inoculação de bactérias e o uso em conjunto (Bac+AH) aumentaram, respectivamente, em 6, 39 e 71% a massa de matéria seca da parte aérea em relação ao controle. Além disso, a aplicação do tratamento (Bac+AH) incrementou significativamente os conteúdos foliares de fósforo e potássio em relação ao controle, o mesmo não ocorreu para os demais tratamentos.

Termos de indexação: Bioatividade, matéria orgânica do solo.

INTRODUÇÃO

O cultivo nacional de milho se mostra bastante tecnificado, fazendo com que a produtividade apresente aumentos crescentes nos últimos anos (CONAB, 2014). Embora verificado crescente aumento da produtividade nas diferentes regiões do país, essa tendência não é homogênea em todo o

território (CRUZ et al., 2008). Um dos fatores que regulam essa heterogeneidade produtiva no país é o diferente grau de investimento em tecnologia na lavoura. Dentre as oportunidades tecnológicas aplicáveis na produção do milho, está o uso de sementes melhoradas, associadas à otimização dos demais fatores de produção, ou seja, manejo integrado de nutrição, fitossanidade e irrigação. Tecnologias recentes têm incluído o uso de bioestimulantes em plantas, buscando estimular o metabolismo da planta e aumentar a eficiência de uso de luminosidade, água e nutrientes (BALDOTTO et al., 2013). Contudo, essa tecnologia ainda é pouco estudada para a cultura do milho.

Vários materiais podem ser usados como bioestimulantes, entre os quais estão as substâncias húmicas, compostas por ácidos fúlvicos (AF) e húmicos (AH), principais componentes da matéria orgânica de solos e compostos orgânicos (GUERRA et al., 2008). Piccolo (2001) postulou que, diferentemente de uma macromolécula de elevada massa molecular, os ácidos húmicos consistem de uma reunião de várias unidades estruturais de massa relativamente pequena, que são estabilizadas por interações fracas, principalmente hidrofóbicas perto da neutralidade, e por pontes de H⁺ em pH ácido. Assim, em solução, os ácidos húmicos podem liberar pequenas estruturas de sua conformação, em resposta a variações no meio tal como exsudação das plantas.

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). Isso pode ser hipoteticamente explicado como parte dos efeitos dos ácidos húmicos que promovem o crescimento vegetal pelo maior enraizamento e aumentam o número de sítios de mitose e emergência de raízes laterais, aumentando o número de pontos de infecção para as bactérias (MARQUES JÚNIOR, 2006).

A hipótese central do presente trabalho é a de que é possível combinar o efeito de promoção do crescimento vegetal característico dos ácidos



húmicos com a inoculação de estirpes selecionadas de bactérias diazotróficas endofíticas no desenvolvimento inicial do milho.

MATERIAL E MÉTODOS

As avaliações foram realizadas em casa de vegetação na Universidade Federal de Viçosa Campus Florestal. Foi utilizada, neste estudo para composição do inoculante, a estirpe UFV 12141 conforme (BRANDÃO 2013), e ácidos húmicos isolados de esterco bovino na concentração de 23,4 mmol L⁻¹ conforme (MELO 2014).

Os tratamentos avaliados foram: T1: sementes recobertas com meio de cultura JMV L semi sólido sem adição de bactérias e ácidos húmicos (Controle); T2: sementes recobertas com meio de cultura JMV L semi sólido+ ácidos húmicos; T3: sementes recobertas com meio de cultura JMV L semi sólido + bactérias e T4: sementes recobertas com meio de cultura JMV L semi sólido + ácidos húmicos + bactérias. As sementes recobertas foram semeadas em vasos de 2 dm³ contendo substrato em igual proporção de areia, solo (horizonte subsuperficial de Latossolo Vermelho Distrófico típico) e composto orgânico (preparado com esterco bovino, conforme Kiehl, 2004). A análise química do substrato, com determinações usuais recomendáveis para o Estado de Minas Gerais por Ribeiro et al. (1999), apresentou pH 5,3; P = 125 mg dm⁻³; K = 108 mg dm⁻³; Ca²⁺ = 24,9 cmolc dm⁻³; Mg²⁺ = 1,4 cmolc dm⁻³; Al³⁺ = 0,2 cmolc dm⁻³; H+Al = 3,10 cmolc dm⁻³; SB = 26,58 cmolc dm⁻³; t = 26,78 cmolc dm⁻³; T = 29,68 cmolc dm⁻³; V = 89 % e m = 0,75 %; MOS = 2,9 dag kg⁻¹ e P-rem = 51,9 mg L⁻¹.

Foram semeadas cinco sementes por vaso e, após a emergência das plantas, três foram removidas e outras duas permaneceram para a condução do experimento. Diariamente, os vasos foram irrigados. As unidades experimentais permaneceram em casa de vegetação, por 45 dias.

Para a preparação do inóculo das bactérias, a colônia da estirpe UFV 12141 foi inoculada em meio DYGS líquido (RODRIGUES NETO et al., 1986) e permaneceu sob agitação a 150rpm, por 24h, a 30°C. Uma alíquota de 30µL da cultura crescida foi transferida para frascos de vidro (volume 12mL) contendo 5mL do meio de cultura JMV L, que corresponde ao meio usados no isolamento da estirpe (BALDANI et al., 1992). Os frascos foram incubados para o crescimento e formação da película por 72h, a 30°C. Após o procedimento citado anteriormente foi feita a inoculação das sementes milho (AG 1051) com as bactérias, para isso as sementes foram totalmente imersas nos seus respectivos tratamentos por 4 horas.

Foram semeadas cinco sementes por vaso e, após a emergência das plantas, três foram removidas e outras duas permaneceram para a condução do experimento. Diariamente, os vasos foram irrigados. As unidades experimentais permaneceram em casa de vegetação, por 45 dias.

Ao final do experimento, foram determinadas as seguintes variáveis: altura das plantas (ALT); número de folhas (NF); largura da parte mediana da maior folha (LF); comprimento da maior folha (CF); diâmetro do caule (DC). No momento da coleta do experimento, as plantas foram cortadas rente ao substrato e foi determinada a matéria fresca da parte aérea (MFPA). As raízes das plantas foram separadas do substrato, lavadas em água corrente, para determinação de sua matéria fresca (MFR). Tanto a parte aérea, como sistema radicular, foram acondicionados em sacos de papel e permaneceram em estufa de ventilação forçada de ar, a 60°C por 72 horas, tempo suficiente para a desidratação dos materiais vegetais até o peso constante e para determinação da sua matéria seca da parte área (MSPA) e matéria seca da raiz (MSR).

Após a secagem, as folhas de milho foram moídas em moinho do tipo Wiley acoplado a peneiras de 0,25 mm (60 mesh). Em seguida, o pó obtido foi submetido à digestão sulfúrica combinada com peróxido de hidrogênio e foram determinados os teores totais de N, P e K. Para N, foi utilizado o método de Kjeldahl; o teor de P foi obtido por espectrofotometria de absorção molecular (colorimetria), após reação com vitamina C e molibdato de amônio, no comprimento de onda de 725 nm; a determinação de K foi realizada por fotometria de chama (EMBRAPA, 1979).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que é possível combinar o efeito de promoção do crescimento vegetal característico dos ácidos húmicos (AH) com a inoculação de estirpes selecionadas de bactérias diazotróficas endofíticas com vias a obtenção de respostas superiores à aplicação isolada de ambos. A adição de ácidos húmicos (AH), a inoculação de bactérias e o uso em conjunto (Bac+AH) aumentaram, respectivamente, em 6, 39 e 71% a massa de matéria seca da parte aérea em relação ao controle (**Tabela 1**). A adição de AH, e a inoculação não estimularam significativamente o aumento da massa de matéria seca da parte aérea em relação ao controle, o mesmo não ocorreu para aplicação do uso conjunto (Bac+AH) que obtiveram resultados significativos. Além disso, a aplicação do tratamento (Bac+AH) incrementou significativamente os conteúdos de fósforo e potássio nos tecidos



vegetais em relação ao controle, o mesmo não ocorreu para os demais tratamentos (**Tabela 2**).

Os resultados do presente trabalho indicam que novas oportunidades tecnológicas podem ser desenvolvidas com base em estimulantes vegetais para aumentar a produtividade do milho. Conforme Silva et al. (2008), existe uma maior procura e um maior uso de sementes melhoradas, associadas a tratamentos de fungicidas, inseticidas e, recentemente, de inoculantes.

Os resultados obtidos no presente trabalho apontam para a possibilidade de uso de um novo insumo biológico baseado na combinação de bactérias promotoras de crescimento do gênero *Burkholderia* e frações bioativas da matéria orgânica na forma de ácidos húmicos em formulações de biofertilizantes, visando melhorar a produtividade do milho, o que pode representar alternativa importante para a redução de custos de produção de produção. Em função do potencial como bioestimulante no desenvolvimento inicial do milho em aplicações via sementes, especialmente do baixo custo da tecnologia e da sua operacionalização, os ácidos húmicos isolados de esterco bovino em combinação com bactérias do gênero *Burkholderia*, podem constituir em uma importante alternativa para o tratamento de sementes, objetivando aumentar a produtividade do milho.

CONCLUSÕES

O uso de ácidos húmicos isolados de esterco bovino na concentração de 23,4 mmol L⁻¹ em conjunto com a estirpe da bactéria UFV 12141 é eficiente, com vias a obtenção de respostas superiores à aplicação isolada de ambos.

REFERÊNCIAS

BALDANI, J. I., CARUSO, L., BALDANI, V. L. D., GOI, S. R., DOBEREINER, J. (1997) Recent advances in BNF with non-legume plants. *Soil Biology & Biochemistry* 29:911-922.

BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. Gladiolus development in response to bulb treatment with *different concentration of humic acids*. *Revista Ceres*. Viçosa, MG, v. 60, n.1, p.138-142, jan./fev. 2013.

BRANDÃO, J. C.; BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A. Isolamento e Caracterização de Bactérias Promotoras de Crescimento em *Cymbidium*. Florianópolis. Anais... Florianópolis Congresso Brasileiro de Ciência do Solo: 2013.

CONAB. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, nono levantamento, Brasília, p. 1-66, 2014.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; ALVARENGA, R. C.; GONTIJO NETO, M. M.; VIANA, J. H. M.; OLIVEIRA, M. F. de; SANTANA, D. P. Manejo da cultura do milho. In: CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; MAGALHAES, P. C. (Ed.). *A cultura do milho*. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, cap. 8, p. 171-197, 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. 282p. Manual de métodos de análise de solo, Rio de Janeiro- RJ: Embrapa Solos, 1979.

GUERRA, J.C.M.; SANTOS, G. DE A.; SILVA, L.S.; CAMARGO, F.A.O. Macromoléculas e substâncias húmicas. In: SANTOS, G. de A. (Ed.). *Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*. 2.ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p.19-26.

KIEHL, E. J. Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto. Piracicaba: 4.ed. 173p. 2004.

MARQUES JR, R. B.; CANELLAS, L. P.; SILVA, L. G.; OLIVARES, F. L. Promoção de enraizamento de microtoletes de cana-de-açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, MG, v.32, p.1121-1128, 2008.

MELO, R. O.; BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. Desempenho inicial e estado nutricional do milho em resposta a ácidos húmicos isolados de esterco bovino e cama de aviário. *Anais... Araxá FERTIBIO*: 2014.

PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. *Soil Science*, Baltimore, v. 166 p. 810-832, 2001.

RODRIGUES NETO, J. Meio simples para o isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris*pv. *citri* Tipo B. *Suma Phytopathologica*, v.12, p.16, 1986.

SILVA, R. M. , JABLONSKI, A., SIEWERDT, L. SILVEIRA JÚNIOR,P. Produção de forragem de milho: Efeito de diferentes doses de substâncias húmicas no cultivo em casa de vegetação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35.Botucatu. Anais... Botucatu: FMVZ-UNESP-SBZ, 1998, p. 409-411b

Tabela 1. Valores das características biométricas: altura (ALT); número de folhas (NF); largura da maior folha (LF); diâmetro do caule (DC); matéria fresca da parte aérea (MFPA); matéria seca da parte aérea (MSPA); matéria fresca da raiz (MFR); matéria seca da raiz (MSR), em função da aplicação de ácidos húmicos (AH), inoculação de bactérias (BAC), e uso conjunto de ácidos húmicos e bactérias (AH+BAC)

Tratamento	ALT	NF	LF	CF	DC	MFPA	MFR	MSPA	MSR
	cm		-----cm-----			----- g por planta -----			
Controle	76,74	4,6	2,66	55,94	0,47	8,64	6,14	1,05 b	0,71
AH	77,59	4,5	2,35	53,4	0,47	8,96	5,70	1,11ab	0,61
BAC	87,50	4,7	2,71	62,4	0,60	12,98	7,34	1,46ab	0,89
AH+BAC	88,00	4,9	2,60	62,7	0,60	13,81	7,54	1,8a	0,95
CV (%)	12,25	8,89	12,41	9,15	12,68	27,1	17,11	25,21	22,09

Médias acompanhadas de letras minúsculas iguais são estatisticamente semelhantes entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Tabela 2. Teores e conteúdos de macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) respectivamente no milho, em resposta a aplicação de ácidos húmicos (AH), inoculação de bactérias (BAC), e uso conjunto de ácidos húmicos e bactérias (AH+BAC)

Tratamentos	Teores			Conteúdo		
	N	P	K	N	P	K
	-----mg por planta-----			-----mg por planta-----		
Controle	1,07	0,19	5,51	20,72	2,17 b	59,01 b
AH	0,95	0,21	5,57	15,57	2,34ab	62,60ab
BAC	1,10	0,20	5,55	21,67	3,04ab	81,78ab
AH+BAC	0,94	0,20	5,57	14,01	3,71 a	100,47 a
CV(%)	15,41	0,96	0,57	22,58	24,75	25,1

Médias acompanhadas de letras minúsculas iguais são estatisticamente semelhantes entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.