

Comportamento de Genótipos de Milho Inoculados com *Azospirillum brasilense*

Ana Carolina Costa Arantes⁽¹⁾; Anastácia Fontanetti⁽²⁾; Fernanda Zatti Barreto⁽³⁾;
Thais Borges de Oliveira⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Estudante de mestrado em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados; Universidade Federal de São Carlos/CCA; Araras, São Paulo; accarantes@gmail.com; ⁽²⁾ Professora; UFSCar/CCA; anastacia@cca.ufscar.br; ⁽³⁾ Estudante de Mestrado PPVBPA; UFSCar/CCA; fernandazbarreto@gmail.com; ⁽⁴⁾ Estudante de Mestrado PPVBPA; UFSCar/CCA; thais_borges5@hotmail.com

RESUMO: A otimização de processos biológicos, como a fixação biológica de nitrogênio aumentam a sustentabilidade dos sistemas produtivos. Objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* no crescimento e teor de clorofila em quatro genótipos de milho, visando o sistema orgânico de produção. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, e os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 4 x 2 com 4 repetições. O primeiro fator foi constituído por 4 cultivares de milho (Al Bandeirantes, Al Avaré, UFV e DKB 390). O segundo fator pela presença ou ausência da inoculação. Utilizou-se o inoculante comercial, com estirpes da bactéria *Azospirillum brasilense* em concentração mínima de 2×10^8 células viáveis ml^{-1} . As variáveis: altura de planta (cm), diâmetro de caule (mm), teor relativo de clorofila, área foliar total, massa seca do colmo e das folhas foram avaliadas nos estádios V4 e R1 do milho. Em todas as avaliações realizadas não houve efeito da aplicação de *Azospirillum brasilense*. Também não houve efeito da interação entre a inoculação e as cultivares de milho.

Termos de indexação: *Zea mays* L.; composto orgânico; agricultura orgânica.

INTRODUÇÃO

O uso de fertilizantes orgânicos, composto e esterco animais, para o cultivo de milho têm apresentado resultados satisfatórios quanto à produtividade de espigas e grãos (Santos et al., 2009; Maia & Cantarutti, 2004; Silva et al., 2004). Embora o composto orgânico, seja um dos fertilizantes mais empregados na agricultura

orgânica, sua utilização implica na realização da compostagem e requer meio de transporte e aplicação, o que eleva os custos de produção.

O mesmo raciocínio se aplica aos esterco de animais. De acordo com Souza et al. (2008), dependendo do volume aplicado, o composto orgânico pode representar cerca de 28,8% da entrada energética do sistema de produção orgânico. Fato que pode onerar os custos de produção e aumentar a dependência de insumos externos à propriedade.

Neste contexto, a otimização de processos biológicos, como a fixação biológica de nitrogênio (FBN), podem reduzir as doses dos fertilizantes orgânicos, contribuindo para maior sustentabilidade do sistema.

O processo da FBN em gramíneas ocorre por meio de bactérias diazotróficas e especificamente para o milho, a *Azospirillum brasilense* é uma das bactérias que vem proporcionando resultados positivos (Basi, 2013). Entre os efeitos positivos, da interação entre *Azospirillum* e milho estão o aumento da produção de matéria seca e grãos, e também o maior acúmulo de nitrogênio nas plantas (Hungria et al., 2010).

Objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* sobre o crescimento, desenvolvimento e teor de clorofila foliar em quatro genótipos de milho, visando o sistema orgânico de produção.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação na UFSCar/CCA, Araras- SP, entre outubro de 2014 e fevereiro de 2015. O

delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 2 com 4 repetições:

1º fator: 4 cultivares de milho (3 variedades de polinização aberta o Al Bandeirantes, Al Avaré e UFV Soberano; e um híbrido simples DKB 390);
2º fator: presença ou ausência da inoculação com *Azospirillum brasilense*.

Utilizou-se inoculante comercial, com estirpes da bactéria *Azospirillum brasilense* em concentração mínima de 2×10^8 células viáveis mL^{-1} . A parcela experimental foi formada por um vaso com volume 15 dm^3 , e uma planta de milho.

Anterior a inoculação com *A. brasilense*, as sementes de milho passaram por desinfecção, através da lavagem com álcool absoluto (99,9%) por 30 segundos, em seguida, imersão em hipoclorito de sódio (10%), por três minutos, e para finalizar, as sementes foram lavadas 10 vezes com água destilada e esterilizada (Costa et al., 2013).

O solo utilizado, Latossolo Vermelho Eutrófico de textura argilosa, foi coletado na camada arável. Com as características químicas: pH 4,9, P-resina 12 mg dm^{-3} , M.O. 22 g dm^{-3} , K $2,0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, Ca $15 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, Mg $5 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, H+Al $45 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, Al $0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, SB $22,4 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, CTC $67,4 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$, V 33%.

Aos 90 dias, anteriores ao semeio do milho, foi realizada a calagem do solo, para a elevação da saturação de bases para 70%. Posteriormente, o solo foi peneirado, e o volume de 15 dm^3 por vaso, foi misturado com 300g de composto orgânico e 7g de biofósforo (fertilizante organomineral fosfatado que contém matéria orgânica, fornece e disponibiliza o P adsorvido no solo), sendo equivalente a dose de 1,2 g de P_2O_5 . As doses do composto e do biofósforo foram determinadas em função da análise química do solo e da recomendação de adubação para experimentação em vasos, segundo Malavolta (1980). Características químicas do composto orgânico: pH 7,7; C 8,1 %; N 1,10 %; P_2O_5 1,40 %; K_2O_5 0,98 %; CaO 4,04 %; MgO 0,50 %; SO_4 1,24 %.

Para a inoculação do produto comercial foi utilizada uma micropipeta automática e a dose, proporcional a recomendada pelo fabricante, concentração mínima de 2×10^8 células viáveis mL^{-1} , foi aplicada sobre as sementes, com distribuição uniforme. Foram semeadas 3 sementes por vaso, que após a emergência, no estádio V2, foi realizado o desbaste,

permanecendo uma planta por vaso.

As variáveis analisadas foram: altura de planta (cm), diâmetro de caule (mm), teor relativo de clorofila, área foliar total, nos estádios fenológicos V4 e R1. Também avaliou-se a massa seca do colmo e das folhas do milho no estádio R1 (florescimento feminino). O teor relativo de clorofila na folha foi determinado utilizando-se um clorofilômetro eletrônico Falker e as leituras foram realizadas no terço superior da última folha completamente expandida de cada planta (Morais, 2013). A determinação de área foliar (AFT, cm^2) foi realizada com o integrador de aérea foliar portátil LI 3000C, em todas as folhas expandidas da planta.

As características avaliadas foram submetidas ao teste F da análise de variância, e as medias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. As análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico SISVAR versão 5.3 (Ferreira, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as avaliações realizadas não houve efeito da aplicação de *Azospirillum brasilense*. Também não houve efeito da interação entre a inoculação e as cultivares de milho (**Tabela 1 e 2**). Esses resultados corroboram com Repke et al. (2013), que não verificaram efeitos do *A. brasilense* no crescimento do milho. Os autores atribuíram o resultado a dois possíveis fatores: número ideal de unidades formadoras de colônia por semente e inibição do *A. brasilense* em função da aplicação de nitrogênio.

A legislação brasileira indica que a quantidade de células viáveis de *A. brasilense* deve ser de 200 milhões mL^{-1} (Hungria, 2011). Quantidade verificada no produto comercial utilizado nesse trabalho. Considerando a dose utilizada 100 mL ha^{-1} , a concentração bacteriana foi de aproximadamente 340 mil unidades formadoras de colônia semente $^{-1}$. De acordo com Arzac et al. (1990) a concentração bacteriana ótima é aproximadamente 17 mil unidades formadoras de colônia por semente, quantidade inferior a utilizada nesse trabalho. No entanto, Roberto et al. (2010) encontraram maior produção de massa verde da parte aérea e massa seca da raiz do milho utilizando 50, 75 e 100 % da dose

de 120 ml ha⁻¹, do mesmo produto comercial empregado.

Em relação à adubação com nitrogênio, Hungria (2011), verificou que nos tratamentos que receberam 100% de N na forma mineral de uréia, o efeito da inoculação com *A. brasiliense* foi em geral nulo. Nesse trabalho, aplicou-se o equivalente a 300 mg kg⁻¹ de N utilizando como fonte o composto orgânico, fato que pode ter afetado a eficiência do *A. brasiliense*.

Tabela 1. Resumo das análises de variâncias para as variáveis: altura de planta (ALT), diâmetro de colmo (DIAM), teor de clorofila (CLO), no estágio de desenvolvimento do milho, quatro folhas expandidas (V4)

Estádio de quatro folhas expandidas (V4)			
Fontes de variação	Quadrado médio		
	ALT	DIAM	CLO
Cultivares	1527,32 ^{ns}	0,027 ^{ns}	10,53 ^{ns}
Inoculação	1358,51 ^{ns}	0,14 ^{ns}	22,44 ^{ns}
Cult x Ino	697,76 ^{ns}	0,021 ^{ns}	15,16 ^{ns}
CV (%)	16,93	20,28	6,82

ns - Valores não significativos a 5% de probabilidade pelo teste F e Tukey.

Tabela 2. Resumo das análises de variâncias para as variáveis, área foliar total (AFT), altura de planta (ALT), diâmetro de colmo (DIAM), teor de clorofila (CLO), massa seca do colmo (MSC) e massa seca da folha (MSF) no florescimento feminino do milho (R1)

Estádio de florescimento feminino do milho (R1)					
Fontes de variação	Quadrado médio				
	ALT	DIAM	CLO	MSC	MSF
Cultivares	657,19 ^{ns}	283318 ^{ns}	95,58 ^{ns}	193,75 ^{ns}	77,36 ^{ns}
Inoculação	6,57 ^{ns}	146005 ^{ns}	60,22 ^{ns}	480,5 ^{ns}	30,03 ^{ns}
Cult x Ino	3143,95 ^{ns}	18314 ^{ns}	35,62 ^{ns}	110,25 ^{ns}	37,28 ^{ns}
CV (%)	8,50	22,03	17,07	33,24	24,16

ns - Valores não significativos a 5% de probabilidade pelo teste F e Tukey

A leitura média da clorofila no estágio R1 do milho, foi de 35,66, inferior ao valor de 50,34,

observado por Jordão et al. (2010) utilizando o *A. brasiliense* para a inoculação do milho. O teor de clorofila é um bom indicativo da quantidade de nitrogênio, pois mais de 50% do nitrogênio total das folhas são integrantes de compostos do cloroplasto e da clorofila das folhas (Chapman & Barreto, 1997).

CONCLUSÕES

A inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasiliense* não afetou o crescimento e a produção de massa seca. Não houve efeitos da interação da inoculação com os genótipos de milho.

AGRADECIMENTOS

FAPESP, CNPq e CAPES

REFERÊNCIAS

- ARSAC, J. F.; LAMOTHE, C.; MULARD, D.; J.FAGES, J. Growth enhancement of maize (*Zea mays* L.) through *Azospirillum lipoferum* inoculation: effect of plant genotype and bacterial concentration. **Agronomie**, Paris, v. 10, p. 640-654, 1990.
- BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. 50p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Centro-Oeste. Guarapuava-PR, 2013.
- COSTA, M. R.; CAVALHEIRO, J. C. T.; GOULART, A. C. P.; MERCANTE, F. M. Sobrevivência de *Bradyrhizobium japonicum* em sementes de soja tratadas com fungicidas e os efeitos sobre a nodulação e a produtividade da cultura. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.39, n.3, p.186-192, 2013.
- CHAPMAN, S. C.; BARRETO, H. J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. **Agronomy Journal**, Madison, v. 89, n.1, p. 557-562, 1997.
- FERREIRA, D. F. Programa Sisvar.exe. **Sistema de Análises de Variância**. Versão 5.3. 2003.
- HUNGRIA M., CAMPO R. J., SOUZA, E.M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, p.413-425, 2010.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo.**

Londrina: Embrapa Soja, 2011. 38 p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).

JORDÃO, L. T.; LIMA, F. F. de; LIMA, R. S.; MORETTI, A. E.; PEREIRA, H. V.; MUNIZ, A. S.; OLIVEIRA, M. C. N. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. In: XXIX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, XIII Reunião Brasileira sobre Micorrizas, XI Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo, VIII Reunião Brasileira de Biologia do Solo. **Anais...** Guarapari, 2010.

MAIA, C.; CANTARUTTI, R. B. Acumulação de nitrogênio e carbono no solo pela adubação orgânica e mineral contínuas na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.8, n.1, 2004.

MORAIS, Tâmara Prado de. **Adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense* em híbridos de milho.** Dissertação. 2012. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fitotecnia, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

REPKE, R. A.; CRUZ, S. H. J. S.; SILVA, C. J. da; FIGUEIREDO, P. G.; SILVIO, J. B. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.12, n.3, p. 214-226, 2013.

ROBERTO, V. M. O.; SILVA, C. D. da; LOBATO, P. N. Resposta da cultura do milho a aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente. In: XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. **CD-Rom**

SANTOS, J. F. dos; GRANGEIRO, J. I. T.; OLIVEIRA, M. E. C. de; BEZERRA, S. A.; SANTOS, M. do C. A. Adubação orgânica na cultura do milho no brejo Paraibano. **Engenharia Ambiental**, Rio de Janeiro.6, p. 209-216, 2009.

SILVA, J.; SILVA, P. S. L.; OLIVEIRA, M.; SILVA, K. M. B. Efeito de esterco bovino sobre rendimentos de espigas verdes e de grãos de milho. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, p.326-331, 2004