



Crescimento e desenvolvimento de milho orgânico inoculado com *Azospirillum brasilense*

*Organic maize growth and development inoculated with *Azospirillum brasilense**

ARANTES, Ana Carolina Costa; FONTANETTI, Anastácia¹; SILVA NETO, Francisco¹; PRÓSPERO, Alexandre Gonçalves¹; PROVIDELLO, Alexandra¹; FERNANDES, Emmanuélly Maria de Souza¹.

¹Universidade Federal de São Carlos/CCA; Araras/SP. accarantes@gmail.com; anastacia@cca.ufscar.br; franciscojose331@gmail.com; alexandregprospero@gmail.com; alexandra.providello@yahoo.com.br; emmanuely.fernandes@gmail.com.

Tema Gerador: Manejo dos Agroecossistemas e Agricultura Orgânica

Resumo

O processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) realizado por bactérias diazotróficas que, também, são promotoras de crescimento, é uma alternativa para o fornecimento de nitrogênio para o milho em sistema orgânico e agroecológico. Objetivou-se avaliar crescimento, desenvolvimento e teor de clorofila do milho orgânico, inoculado com *Azospirillum brasilense*, sob diferentes adubações. O experimento foi realizado na UFSCar/CCA–Araras/SP, na safra de 2015, em blocos casualizados no esquema fatorial 2 (com e sem a inoculação de *A. brasilense*) x 2 (composto orgânico e adubo mineral) + 1 (testemunha), com 4 repetições. Avaliou-se: altura, diâmetro, área foliar específica, índice de área foliar e índice de clorofila Falker. O destaque foram os tratamentos com adubação mineral. A inoculação interferiu de forma positiva no índice de clorofila, no V8 do milho. De forma geral, o *A. brasilense* não influenciou no crescimento e desenvolvimento do milho, para a maioria das variáveis avaliadas.

Palavras-chave: nutrição; bactérias diazotróficas; composto orgânico; fixação biológica de nitrogênio; *Zea mays* L..

Abstract

The nitrogen biological fixation process (FBN) performed by diazotrophic bacteria, which are also growth promoters, is an alternative for the supply of nitrogen to maize in the organic system. The objective was to evaluate the growth, development and chlorophyll content of organic maize, inoculated with *Azospirillum brasilense*, under different sources of fertilization. The experiment was conducted at UFSCar / CCA - Araras / SP, in the outbreak of 2015, with a randomized complete blocks in factorial scheme 2 (with and without inoculation of *A. brasilense*) x 2 (organic compound and mineral fertilizer) + 1 (control), with 4 repetitions. The evaluations were: height, diameter, specific leaf area, leaf area index and Falker chlorophyll index. The treatments presented different responses along the maize development, with emphasis on mineral fertilization. The inoculation with *A. brasilense* positively interfered with the chlorophyll index in the maize vegetative phase. In general, *A. brasilense* did not influence maize growth and development, for most variables evaluated.

Keywords: nutrition; diazotrophic bacteria; organic compound; biological nitrogen fixation; *Zea mays* L..



Introdução

O milho pode apresentar menor produção de massa de matéria seca e, ou, de grãos em solos com baixa fertilidade (Dartora *et al.*, 2013), esse cereal é exigente, principalmente, em nitrogênio, o qual é responsável pelo incremento na produtividade (Fernandes; Libardi; Trivelin, 2008). A saber, que a maioria dos solos brasileiros, apresentam baixa disponibilidade de nitrogênio (Dartora *et al.*, 2013).

A agricultura orgânica tem como principal diretriz a sustentabilidade dos agroecossistemas, por meio do equilíbrio do solo e dos demais recursos naturais, desta maneira, preconiza o uso de fertilizantes orgânicos (Brasil, 2003; Coelho *et al.*, 2016). O uso de fertilizantes orgânicos para o cultivo de milho tem apresentado Resultados satisfatórios quanto à produtividade de espigas e grãos. Porém, os fertilizantes orgânicos podem não suprir a demanda de nitrogênio pelo milho (Coelho *et al.*, 2016). A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é uma Fonte alternativa desse nutriente, processo esse, que é realizado por micro-organismos capazes de fixar o N₂ (Baldani *et al.*, 1997).

As bactérias diazotróficas, responsáveis pelo processo de FBN, além de fixar o N₂ e disponibilizar para a cultura associada, são capazes de promover o crescimento vegetal e gerar incrementos no desenvolvimento e na produtividade da cultura (Baldani *et al.*, 1997), com a produção de auxinas e solubilização do fósforo no solo (Dartora *et al.*, 2013), sendo o gênero *Azospirillum*, o mais comumente encontrado em associação com poáceas, como o milho (Coelho *et al.*, 2016).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento, desenvolvimento e teor de clorofila do milho orgânico, inoculado com *Azospirillum brasilense*, sob diferentes Fontes de adubação.

Metodologia

O experimento foi realizado na UFSCar/CCA – Araras/SP, na safrinha de 2015. O delineamento experimental foi de blocos casualizados no esquema fatorial 2 (com (CA) e sem (SA) a inoculação de *Azospirillum brasilense*) x 2 (composto orgânico (C) e adubo mineral (M)) + 1 (testemunha – milho sem adubação), com 4 repetições.

O solo da área é um Latossolo Vermelho Distrófico de textura argilosa: P resina (14 mg dm⁻³); M.O. (23 g dm⁻³); pH (5,5); K (4,9 mmolc dm⁻³); Ca (27 mmolc dm⁻³); Mg (9 mmolc dm⁻³); H+Al (23 mmolc dm⁻³); SB (41 mmolc dm⁻³); CTC (63 mmolc dm⁻³); V (64 %). A semeadura do milho, Al Avaré Orgânico, foi feita na densidade 5 sementes m⁻¹, objetivando a população de 55.000 plantas ha⁻¹. As parcelas experimentais foram formadas por 4 linhas de milho com 5 m de comprimento e espaçadas a 0,80 m.



Na adubação com composto orgânico, foi utilizado o produto comercial Visafertil® na quantidade de 9,2 t ha⁻¹ (composto seco), com característica química: C (13,1%); N (1,3%); P₂O₅ (3,13%); K₂O (1,62%); CaO (11,1%); MgO (1,98%); SO₄ (1,5%); Cu (69,2 ppm); Fe (561 ppm); Mn (511,2 ppm); Zn (766 ppm); Ph (8,0 CaCl₂). Na adubação mineral, foi utilizado o adubo 4-14-8 na quantidade de 570 kg ha⁻¹ e para a adubação de cobertura foi utilizado 20 kg ha⁻¹ de uréia.

As sementes foram inoculadas com produto comercial, estirpes na concentração mínima de 2x10⁸ células viáveis ml⁻¹ da bactéria *A. brasilense*. A inoculação ocorreu em laboratório de forma manual, com a aplicação de 100 ml ha⁻¹ (recomendação do fabricante), ou seja, na proporção de 1 ml de inoculante para 500 sementes.

Foram avaliados, na fase vegetativa (V8) e reprodutiva (R1-R2) nas duas linhas centrais: altura de plantas - ALT (m); diâmetro do colmo - DIA (cm); área foliar específica - AFE (cm² g⁻¹), divisão da área foliar total pela massa de matéria seca das folhas; índice de área foliar - IAF (cm² cm⁻²), divisão da área foliar total pela área ocupada pela planta (80x20cm), para avaliação da área foliar foi utilizado o Leitor Fotoelétrico portátil LI 3000C; e índice de clorofila Falker - ICF, com clorofilômetro eletrônico (ClorofiLOG - Falker CFL1030).

Os Resultados foram submetidos à análise de variância. As médias das variáveis analisadas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. A comparação entre as médias dos tratamentos com a testemunha foi realizada por contrastes entre as médias, pelo teste F a 5% de significância, com o software SISVAR 5.6.

Resultados e Discussão

A inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* apresentou efeito isolado apenas para o IAF com a avaliação no estágio reprodutivo, com maiores valores para os tratamentos com a inoculação. O aumento do IAF com *A. brasilense* (Tabela 1A) representa fator importante para a captação da energia luminosa, que serão convertidos em fotoassimilados e translocados para o enchimento dos grãos. O incremento no IAF pode estar associado com a produção de fitormônios pela bactéria como a auxina, giberilina e citocinina (Dartora *et al.* 2013),



Tabela 1. A. Médias do Diâmetro (DIA), altura (ALT), índice de clorofila Falker (ICF) e índice de área foliar (IAF), do milho, de acordo com os tratamentos (adubos e inoculante). **B.** Médias do Índice de clorofila Falker (ICF), no estágio vegetativo (V8) e Área foliar específica (AFE), no estágio reprodutivo (R1-R2), do milho, de acordo com a adubação e a presença (CA) e ausência (SA) de inoculação. Araras/SP, 2015.

A.

Adubos	V8	R1 - R2	
	DIA (mm)	ALT (m)	ICF
Mineral	21,78 a	2,24 a	58,88 a
Orgânico	20,80 b	2,12 b	53,42 b
CV (%)	4,04	3,65	3,95
Inoculante	IAF (cm ² cm ⁻²)		
Sem <i>A. brasilense</i>	2,84 b		
Com <i>A. brasilense</i>	3,27 a		
CV (%)	11,55		

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5%.

B.

Inoculante	V8		R1-R2	
	ICF		AFE (cm ² g ⁻¹)	
	A. Mineral	C. Orgânico	A. Mineral	C. Orgânico
CA	59,08 aA	55,10 bA	168,42 aA	161,71 aB
SA	59,02 aA	50,78 bB	160,01 bA	182,99 aA
C.V. (%)	2,06		7,00	

Médias seguidas de uma mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5%.

O maior DIA de colmo, altura de planta e ICF do milho foram observados quando se utilizou a adubação mineral. O adubo mineral pode ter proporcionado maiores valores de ALT, DIA e ICF (Tabela 1A) devido à rápida disponibilização dos nutrientes, principalmente o nitrogênio, como explicam Dartora *et al.* (2013), que a maior altura de plantas pode estar associada à aplicação de N na forma mineral, pois este nutriente é o responsável pelo alongamento do caule, e também pelo aumento do diâmetro de



colmo do milho, o qual pode contribuir para o incremento da produtividade, uma vez que no colmo são acumulados sólidos solúveis que poderão ser utilizados para a formação dos grãos.

O N é o principal constituinte da molécula de clorofila, 50% do N total nas folhas se encontra na clorofila e em compostos dos cloroplastos (Chapman & Barreto, 1997). Desta forma, o ICF é um bom indicativo de N nas plantas, como medida indireta de clorofila, como visto neste trabalho, os maiores valores do ICF foram observados nas plantas receberam adubação mineral (Tabela 1A).

No estágio V8 (Tabela 1B) o adubo mineral proporcionou maiores ICF e a inoculação com *A. brasilense* só foi eficiente quando se utilizou o composto orgânico. Diferente deste, Jordão *et al.* (2010), verificaram que a utilização de *A. brasilense* incrementou os valores do índice de clorofila, independente da dose de N.

A pronta disponibilidade do nitrogênio, em função da solubilidade das Fontes de adubo mineral utilizadas, também pode ter inibido o efeito do *A. brasilense*. De acordo com Hungria *et al.* (2011) o efeito da inoculação com *Azospirillum* foi nulo nos tratamentos que receberam 100% de N na forma mineral (uréia).

O valor do ICF nos tratamentos com o composto orgânico se encontra a baixo do indicado por Argenta *et al.* (2003), que explicaram que ICF abaixo de 58,0 na fase de espigamento, pode indicar insuficiência de nitrogênio. O incremento na ALT e no ICF em relação à testemunha (Tabela 2), se deve em sua maioria à utilização do adubo mineral. Porém na fase vegetativa do milho o tratamento com inoculação e composto orgânico proporcionou maior ICF. Para a AFE, o menor valor foi observado na adubação com composto orgânico com inoculação com *A. brasilense* (Tabela 1B).



Tabela 2. Médias dos contrastes entre os tratamentos (adubo mineral –M e composto orgânico – C e presença – CA e ausência AS de inoculante) versus o milho testemunha, para as variáveis: altura (ALT), diâmetro (DIA), área foliar específica (AFE), índice de área foliar (IAF) e índice de clorofila Falker (ICF). Araras/SP, safrinha 2015.

Contrastes	ALT (m)		DIA (mm)		AFE (cm ² g ⁻¹)		IAF(cm ² cm ⁻²)		ICF	
	V8	R1-R2	V8	R1-R2	V8	R1-R2	V8	R1-R2	V8	R1-R2
CAC	1,10 ^{ns}	2,10 ^{ns}	21,36 ^{ns}	21,21 ^{ns}	174,03 ^{ns}	161,71 ^{ns}	2,60 ^{ns}	3,03 ^{ns}	55,10*	54,32 ^{ns}
CAM	1,09 ^{ns}	2,25*	21,72 ^{ns}	21,88 ^{ns}	178,54 ^{ns}	168,42 ^{ns}	2,66 ^{ns}	3,50 ^{ns}	59,08*	60,16*
SAC	1,07 ^{ns}	2,12 ^{ns}	20,24 ^{ns}	19,42 ^{ns}	191,13 ^{ns}	182,99 ^{ns}	2,68 ^{ns}	2,83 ^{ns}	50,78 ^{ns}	52,54*
SAM	1,14 ^{ns}	2,22*	21,83 ^{ns}	21,82 ^{ns}	186,70 ^{ns}	160,01 ^{ns}	2,57 ^{ns}	2,86 ^{ns}	59,02 *	57,61 ^{ns}
Milho testemunha	0,96	1,97	19,98	19,55	179,76	172,17	2,37	2,91	50,52	56,16
CV (%)	10,53	5,34	5,73	7,68	6,69	6,26	16,91	14,71	2,13	4,18

Conclusão

Os tratamentos apresentaram respostas diferentes ao longo do desenvolvimento do milho, com destaque para a adubação mineral, quanto ao diâmetro, no estágio V8 e altura e índice de clorofila Falker no estágio R1-R2. A inoculação com o *A. brasilense* interferiu de forma positiva no índice de clorofila, na fase vegetativa do milho. O fornecimento de nitrogênio prontamente solúvel ou em doses mais elevadas mesmo advindo da adubação orgânica parece inibir o efeito do *A. brasilense*. De forma geral, o *A. brasilense* não influenciou o crescimento do milho, para a maioria das variáveis, e o principal responsável pelas alterações encontradas foi o tipo de adubação.



Referências Bibliográficas

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; FOSTHOFFER, E. L.; STRIEDER, M. L.; SUHRE, E.; TEICHMANN, L. L. Adubação nitrogenada em milho pelo monitoramento do nível de nitrogênio na planta por meio do clorofilômetro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 109-119, 2003.

BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DOBEREINER J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, p.911-922, 1997.

BRASIL. Lei n.10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial [da] da Republica Federativa do Brasil**, Brasília, 24 dez. 2003. Seção 1, p.8. 2003.

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.

COELHO, S. P.; GALVÃO, J. C. C.; GIEHL, J.; CAMPOS, S. DE A.; BRITO, L. M.; SANTOS, T. R. DOS; MENDONÇA, B. F. Influência de *Azospirillum brasiliense* no crescimento de milho em manejo orgânico e convencional. In. **Congresso Brasileiro de milho e sorgo**, 31, p. 1083-1086, 2016.

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**, Campina Grande, v.17, n.10, p.1023–1029, 2013.

FERNANDES, F. C. S.; LIBARDI, P. L.; TRIVELIN, P. C. O. Parcelamento da adubação nitrogenada na cultura do milho e utilização do N residual pela sucessão aveia preta - milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1138-1141, 2008.

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.

JORDÃO, E. T.; LIMA, F. F. de; LIMA, R. S.; MORETTI, P. A. E.; PEREIRA, H. V.; MUNIZ, A. S.; OLIVEIRA, M. C. N. de. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. In. **Reunião Brasileira de Fertilidade dos Solos e Nutrição de plantas**, 29, 5 p, 2010.