

## **AÇÃO DO *Azospirillum lipoferum* NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO**

*Adriano da Silva Ramos*

Universidade Federal de Alagoas Estudante de Agronomia, CECA, UFAL BR 104 NORTE 85 – MATA DO ROLO – 57100 – 000 – Rio Largo, AL – Brasil E – mail: taniamarta2@hotmail.com

*Tania Marta Carvalho dos Santos*

Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup>. CECA, UFAL Universidade Federal de Alagoas BR 104 NORTE 85 – MATA DO ROLO – 57100 – 000 – Rio Largo, AL – Brasil E – mail: tmcs@ceca.ufal.br

*Thalyson Medeiros de Santana*

Universidade Federal de Alagoas Estudante de Agronomia, CECA, UFAL BR 104 NORTE 85 – MATA DO ROLO – 57100 – 000 – Rio Largo, AL – Brasil E – mail: thalyson\_medeiros@hotmail.com

*Érica lívea Ferreira Guedes*

Universidade Federal de Alagoas Estudante de Agronomia, CECA, UFAL BR 104 NORTE 85 – MATA DO ROLO – 57100 – 000 – Rio Largo, AL – Brasil E – mail: ericalivea@hotmail.com

*Yamina Coentro Montaldo*

Universidade Federal de Alagoas Zootecnista, CECA, UFAL BR 104 NORTE 85 – MATA DO ROLO – 57100 – 000 – Rio Largo, AL – Brasil E – mail: yaminacm@hotmail.com

**Resumo:** O milho, um dos cereais mais plantados no mundo, é a base alimentar para milhões de pessoas e uma das espécies de planta mais estudada e melhorada. Pelo seu crescimento rápido, apresenta elevada demanda de nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo; por isso pode se beneficiar da associação com bactérias diazotróficas. Estudou-se o desenvolvimento vegetativo da variedade milho Assum Preto, na presença da estirpe de *Azospirillum*, BR 11084, utilizando-se para comparação a dose de nitrogênio recomendada para a cultura do milho. Foram avaliados a altura das plantas, o diâmetro do coleto, a massa seca da parte aérea e da raiz e a relação massa seca da raiz com a massa seca da parte aérea do milho. O trabalho foi estruturado em delineamento em blocos casualizados com 4 tratamentos (1- controle: sem bactéria e sem nitrogênio; 2- estirpe BR 11084; 3- adubação com nitrogênio; 4-estirpe BR11084+N). Exceto para diâmetro do coleto, o tratamento 4 apresentou a maior média para as demais características, porém não diferiu dos tratamentos 2 e 3 nas características altura e diâmetro do coleto respectivamente; o controle teve as menores médias e diferiu significativamente em todas as características. O tratamento 2 não diferiu significativamente do tratamento 3; nas características matéria seca da parte aérea e da raiz, a relação da matéria seca da raiz com matéria seca da parte aérea do milho não houve diferença significativa. Baseando-se nas respostas das características estudadas, as maiores médias foram obtidas para os tratamentos que foram inoculados com bactéria e recebeu adubação nitrogenada.

**Palavras-chave:** *Azospirillum*, milho, diazotróficas, nitrogênio.

## **ACCIÓN DEL *Azospirillum lipoferum* EN EL DESARROLLO DE LAS PLANTAS DE MAÍZ**

**Resumen:** El maíz, uno de los de grano más cultivado en el mundo, es el alimento básico para millones de personas y unir a las especies vegetales más estudiados y mejorados. Por su rápido crecimiento, con alta demanda de los nutrientes, especialmente nitrógeno y fósforo, por lo que pueden beneficiarse de la asociación a diazotrofos. Estudió el desarrollo vegetativo del maíz variedad Suponiendo Preto, en presencia de la cepa de *Azospirillum*, BR 11 084, utilizando para la comparación, la dosis recomendada de nitrógeno para el cultivo de maíz. Se evaluó la altura de las plantas, diámetro del tallo, el peso seco del vástago y raíz relación peso seco y raíz-vástago peso en seco de maíz. El trabajo se estructura en un diseño de bloques al azar con cuatro tratamientos (1 - Control: las bacterias no y no de nitrógeno, 2 - la cepa BR 11 084 3 - la fertilización con nitrógeno, 4-cepas BR11084 + N). A excepción de diámetro basal, el tratamiento 4 presentó el mayor promedio de los otros rasgos, pero no fue diferente de los tratamientos 2 y 3 en altura y diámetro del tallo, respectivamente; testigo tuvo el promedio más bajo y diferían significativamente en todos los rasgos. El tratamiento 2 no fue significativamente diferente del tratamiento 3, las características de materia seca aérea y radical, la relación de la raíz seca y disparar de materia seca de maíz no hubo diferencias significativas. Basándose en las respuestas de las características estudiadas, los promedios se obtuvieron importantes para los tratamientos que fueron inoculados con la bacteria y había recibido fertilizantes de nitrógeno.

**Palabras clave:** *Azospirillum*, milho, nitrogênio diazotróficas.

## ACTION OF *Azospirillum lipoferum* DEVELOPMENT PLANT CORN

**Abstract:** Corn, one of the most widely planted grain in the world, is the staple food for millions of people and unite the plant species most studied and improved. By its rapid growth, with high demand of nutrients, especially nitrogen and phosphorus, so it can benefit from association with diazotrophs. Studied the vegetative development of corn variety Assum Preto, in the presence of the strain of *Azospirillum*, BR 11 084, using for comparison, the recommended dose of nitrogen for the corn crop. We evaluated the height of the plants, stem diameter, dry mass of shoot and root dry weight ratio and root to shoot dry mass of corn. The work was structured in a randomized block design with four treatments (1 - Control: no bacteria and no nitrogen, 2 - strain BR 11 084 3 - fertilization with nitrogen, 4-strain BR11084 + N). Except for basal diameter, treatment 4 had the highest average for the other traits, but did not differ from treatments 2 and 3 in height and stem diameter respectively; control had the lowest average and differed significantly in all traits. Treatment 2 was not significantly different from treatment 3, the characteristics of dry matter shoot and root, the ratio of dry root and shoot dry matter of maize there was no significant difference. Based on the responses of the characteristics studied, the major averages were obtained for treatments that were inoculated with bacteria and had received nitrogen fertilizer.

**Keywords:** *Azospirillum*, corn, diazotrophic nitrogen

## INTRODUÇÃO

O milho tem grande importância social, econômica e cultural no Brasil. Aproximadamente, 12 milhões de hectares são cultivados, em sua maioria, por pequenos e médios agricultores (Fancelli & Dourado-Neto, 2000). Essa cultura geralmente é influenciada por problemas de estresse ambiental, dentre os quais se destaca a baixa fertilidade dos solos, que, em sua maioria, apresentam deficiência de N. Segundo Fancelli (2004), tal deficiência pode reduzir o rendimento de grãos entre 14 e 80 %. Sabe-se que existem interações entre o N e os efeitos de bactérias diazotróficas/promotoras de crescimento na assimilação e utilização desse nutriente. (REIS JR., 2008)

Os microrganismos diazotróficos endofíticos apresentam grande potencial na FBN devido à habilidade que apresentam para colonizar toda a planta e estabelecer-se dentro de nichos protegidos do oxigênio ou de outros fatores, podendo expressar seu grande potencial para fixação de nitrogênio em grau máximo (KENNEDY et al., 1997). Esses microrganismos penetram na planta hospedeira pelas aberturas naturais e injúrias. Nas raízes, um dos sítios de entrada mais utilizados pelas bactérias endofíticas são as injúrias causadas pela emergência de raízes laterais (CERIGIOLI, 2006).

O uso das bactérias diazotróficas endofíticas representa um grande potencial para reduzir a dependência de fertilizantes nitrogenados sintéticos. O aumento do custo dos adubos nitrogenados e a preocupação cada vez maior, no exterior e no Brasil, com os possíveis efeitos negativos do excesso de nitrato nos mananciais são fatores que devem ser levados em consideração para o incentivo ao estudo do processo natural de Fixação biológica do Nitrogênio (FBN) (CANTARELLA & DUARTE, 2004

CONCEIÇÃO et al, 2009). Assim, todas as possibilidades de incremento da FBN na agricultura devem ser exploradas, não somente como alternativa econômica, mas também ecológica (CANUTO, 2003).

Entre os microrganismos diazotróficos encontrados em associações com cereais e gramíneas, as espécies de *Azospirillum* constituem um dos grupos mais bem estudados atualmente, sendo numerosos os trabalhos sobre sua ecologia, fisiologia e genética (BALDANI et al., 1997; BASHAN & HOLGUIN, 1997). A interação positiva entre essas bactérias diazotróficas/promotoras de crescimento e o milho tem sido demonstrada por vários autores e, a inoculação com *Azospirillum* resultou, na maioria dos casos, em aumento de produção e/ou de matéria seca e acúmulo de N nas plantas inoculadas (SALOMONE et al., 1996; OKON & LABANDERA-GONZALEZ, 1994; OKON & VANDERLEYDEN, 1997).

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no laboratório de Microbiologia Agrícola e casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias - UFAL, Campus Delza Gitaí, Rio Largo - AL. Foi utilizado o delineamento em blocos casualizados com 4 tratamentos (4 tratamentos (1- controle: sem bactéria e sem nitrogênio; 2- estirpe BR 11084; 3- adubação com nitrogênio; 4-estirpe BR11084+N). O nitrogênio foi fornecido na forma de ureis proporção de 30 kg.ha<sup>-1</sup>, aplicada em cobertura.

Foi utilizada uma espécie de bactéria diazotrófica, *Azospirillum lipoferum* (estirpe BR 11084), cedido pelo Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia, Seropédica-RJ. A estirpe estava liofilizada e foi multiplicada em meio de cultura NFb sólido acrescido de 20 mg de extrato de levedura e depois foi incubada em erlenmeyer com meio NFb líquido, disposto em agitador

rotativo com temperatura ambiente por cinco dias. A semente de milho utilizada foi da variedade Assum Preto, cedida pelo Centro de Pesquisa Agropecuária dos Tabuleiros Costeiro, Embrapa Aracaju-SE, foram inicialmente colocadas em imersão em álcool a 90% por 3 minutos. Após drenagem do álcool, foram imersas em hipoclorito de sódio a 1% durante quatro minutos. As sementes foram então, exaustivamente, lavadas em água esterilizada até não exalarem mais odor de cloro.

Após o processo de desinfestação, as sementes foram colocadas em contato com o inoculante líquido por trinta minutos, e cultivada em vaso com 2 kg de solo (análise em anexo), autoclavado a 121°C e 1 atm por duas horas. O solo teve uma fração peneirada de 5,0 mm dos primeiros 20 cm de profundidade, da área experimental do Campus Delza Gitaí, Rio Largo - AL.

A avaliação foi realizada aos 30 dias após a semeadura onde foi avaliado o crescimento da altura das plantas, do diâmetro do coleto das plantas e a massa da matéria seca da raiz e parte aérea das plantas. Para

determinação da massa da matéria seca, todo material (parte aérea e raízes) foi colocado em estufa de circulação forçada de ar (65 °C) até atingir peso constante.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 1). Para a característica altura das plantas (Tabela 2) não foram detectadas diferenças entre os tratamentos 1 e 3, mas diferem dos tratamentos 4 e 2. O tratamento 2 diferiu significativamente dos demais, para o diâmetro do coleto e apresentou a menor média. Quando há pouco nitrogênio no solo, as plantas são raquíticas e suas folhas são verde-azuladas, pequenas e finas; os caules ficam finos e fracos, (MALAVOLTA & DANTAS, 1987) estes últimos sintomas foram observados na testemunha.

**Tabela 1:** Valores e significância dos quadrados médios e coeficiente de variação das características altura, diâmetro do coleto, massa da matéria seca da parte aérea e da raiz, e da relação massa da matéria seca da raiz com a massa da matéria seca da parte aérea do milho (*Zea mays*), variedade Assum Preto, em função da presença da bactéria diazotrófica (*Azospirillum lipoferum*, estirpe BR 11084) comparando-se com a dose recomendada de nitrogênio (30 kg ha<sup>-1</sup>).

Causa da variação	GL	QM				
		Altura	Diâmetro do coleto	Massa da mat. seca da parte aérea	Massa da mat. seca da raiz	Rei. massa da mat. seca da parte aérea com a massa da mat. seca da raiz
Bloco	5	16,46635*	0,040214ns	0,1090135ns	0,3637*	2110,0015ns
Tratamento	3	147,2537**	1,383549**	1,922687**	1,0896**	1659,2027ns
Resíduo	15	3,968465	0,104545	0,018388	0,1105	739,5918
Total	23					
cv %		4,13	6,02	11,65	14,09	21,43

ns: Não significativo pelo teste F

\*: Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F

\*\* : Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F

**Tabela 2:** Médias da altura (cm) das plantas de milho (*Zea mays*), variedade Assum Preto, das características altura, diâmetro do coleto, massa da matéria seca da parte aérea e da raiz, e da relação massa da matéria seca da raiz com a massa da matéria seca da parte aérea do milho (*Zea mays*), variedade Assum Preto, em função da presença da bactéria diazotrófica (*Azospirillum lipoferum*, estirpe BR 11084) comparando-se com a dose recomendada de nitrogênio (30 kg ha<sup>-1</sup>).

Tratamentos*	Controle	BR 11084	N	BR 11084+N
Altura(cm)	41,85 C	50,76 A	47,19 B	53,25 A
Diâmetro basal do colmo(mm)	4,69 B	5,43 A	5,49 A	5,02 A
Massa seca da parte aérea (MSA)(g)	1,31 C	1,95 B	1,85 B	2,69 A
Massa seca da raiz (MSR)(g)	1,84 C	2,34 B	2,35 B	2,86 A
MSR/MSA (g)	107,69 A	121,71 A	130,67 A	147,35 A

\*Médias seguidas de mesma Letra na horizontal não difere significativamente pelo teste de Tukey a 5%

A presença da bactéria fixadora de nitrogênio e/ou do adubo nitrogenado não favoreceu apenas a massa seca da raiz mas também a massa seca da parte aérea, simultaneamente, assim como a ausência do nitrogênio diminuiu o rendimento tanto da massa seca da raiz como da massa seca da parte aérea. Embora a massa seca da raiz e da parte aérea tenham valores médios absolutos com diferenças significativas separadamente, a razão entre essas duas características demonstraram semelhança entre os tratamentos estudados, implicando dizer que: à medida que a raiz se desenvolve a parte aérea acompanha.

De um modo geral, para as características altura da planta, diâmetro do coleto e massa da matéria seca da parte aérea e da raiz, nos tratamentos que forneciam nitrogênio, (fixados por bactérias ou fornecido pela ureia), observou-se resultados semelhantes aos sintomas citados por Coelho (1973), que diz, dos três nutrientes de plantas considerados como macro-nutrientes principais (nitrogênio, fósforo e potássio), o nitrogênio é o que exerce efeitos mais rápidos e pronunciados sobre o desenvolvimento das plantas. Sua função básica nelas é estimular o crescimento vegetativo, sendo responsável pela cor verde-escura nas folhas, quando bem nutridas, e promover grande desenvolvimento do sistema radicular, proporcionando às plantas condições de exploração de maior volume de solo, para a testemunha observou-se resultados baixos, que segundo Pons (1980), quando não existe N suficiente para a realização da síntese proteica e da clorofila, as plantas permanecem raquíticas e se tomam rapidamente cloróticas, em consequência, a planta sofre inibição de sua capacidade de assimilação e formação de glicídios (carboidratos).

## CONCLUSÃO

Baseando-se nas respostas das características estudadas, as maiores médias foram obtidas para os tratamentos que foram inoculados com bactéria e recebeu adubação nitrogenada.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 29, p. 911-922, 1997.
- BALDANI, J. I. et al. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 29, p. 911-922, 1997.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, p. 103-121, 1997.
- CANTARELLA, H.; DUARTE, A.P. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. In: GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G. V. **Tecnologias de Produção do milho**. Viçosa, MG: UFV, 2004. p.139-182.
- CANUTO, E.L. **Seleção de bactérias diazotróficas endofíticas para uso com insumo biológico em plantas de cana-de-açúcar oriundas de sementes**. 2003. 72p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

- CERIGIOLI, M.M. **Diversidade de bactérias endofíticas de raízes de milho (*Zea Mays* L.) e potencial para promoção de crescimento**. 2006. 132p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- COELHO, F. S., **Fertilidade do Solo**. 2ª edição, Campinas-SP, Instituto Campineiro de Estudo Agrícola, 1973. 384 p.
- CONCEICAO, P. M. et al . Efeito dos ácidos húmicos na inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em sementes de milho. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 6, Sept. 2009 . Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782009000600038&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782009000600038&lng=en&nrm=iso)>. access on 27 May 2010. Epub July 10, 2009. doi: 10.1590/S0103-84782009000600038.
- FANCELLI, A.L. & DOURADO-NETO, D. Produção de milho. Guaíba, Agropecuária, 2000. 360p
- FANCELLI, A.L. **Ecofisiologia e Ambiente de Produção**. Curso on-line. Manejo da cultura do milho. 2004. p.1-18
- KENNEDY, I.R. et al.. Biological nitrogen fixation in nonlegumes field crops: facilitating the evolution of in effective association between *Azospirillum* and wheat. **Plant and Soil**, v.194, p.65-79, 1997.
- MALAVOLTA, E. & DANTAS, J.P. Nutrição e adubação do milho. In: PATERNIANI, E. & VIEGAS, G.P.; ed. **Melhoramento e produção do milho**. 2ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v.2. p.541
- OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 26, p. 1591-1601, 1994.
- OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **ASM News**, v. 63, p. 364-370, 1997.
- PONS, A.L., **Instituto de Pesquisa Agropecuária**. IP AGRO, n° 23, pág 51,1980.
- REIS JUNIOR, F. B. et al . Inoculação de *Azospirillum* amazonense em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 3, June 2008. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010006832008000300022&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010006832008000300022&lng=en&nrm=iso)>. access on 26 May 2010. doi: 10.1590/S0100-06832008000300022.
- SALOMONE, I. G. de; DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to *azospirillum* inoculation. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 21, p. 193-196, 1996.

Recebido em 13/01/2010

Aceito em 17/08/2010