



ARTIGO CIENTÍFICO

Eficiência da inoculação de *Azospirillum brasilense* associado com enraizador no crescimento e na produção de alface

Azospirillum brasilense inoculation efficiency associated with rooting growth and production of lettuce

Antonio Anicete de Lima^{*}, Luciano dos Reis Venturoso¹, Bruno Antonio Azevedo Silva², Aniquely Ferreira Gomes³, Osvino Schimidt⁴

Resumo: Objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* (AzBr) com e sem enraizador, no crescimento, produção de biomassa e resistência a pragas da alface, cultivar Lucy Brown. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em recipientes plásticos com capacidade de 8,0 L no espaçamento 40 x 20 cm. O delineamento experimental foi de blocos casualizados em esquema fatorial (2x3)+1, sendo o primeiro fator *Azospirillum* com e sem enraizador de crescimento e o segundo doses de nitrogênio em cobertura, 0%, 50% e 100% da recomendação de adubação e uma testemunha com adubação convencional, com quatro repetições. Em doses médias de 50% de N em cobertura, tanto o AzBr, quanto a associação AzBr mais enraizador, apresentaram um incremento significativo na massa fresca da parte aérea e de raízes de 19,36% e 23,66%, respectivamente, em relação a dose máxima de N e a testemunha. A massa seca da parte aérea não diferiu significativamente nos diferentes tratamentos, embora tenha mostrado um pequeno aumento com as doses crescente de N. A massa seca de raízes diminuiu 29,24% no tratamento com 100% de N, quando comparado ao tratamento sem cobertura nitrogenada mais AzBr. O estande final de plantas foi significativamente maior no tratamento no qual N não foi aplicado em cobertura, destacando-se a inoculação com AzBr, média de 96,98% de plantas estabelecidas, contra 51,56% na testemunha convencional, observando-se que até a dose média de N, houve uma maior tolerância das plantas aos sintomas de minas foliares e as viroses do Grupo Tospovirus.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L.; Cobertura nitrogenada; Produtividade.

Abstract: In the survey evaluated the effect of *Azospirillum brasilense* (AzBr) inoculated with and without rooting, on growth, biomass production and lettuce pest resistance, cultivar Lucy Brown. The experiment was conducted in a greenhouse in plastic bags with 8.0 L capacity in the spacing, 40 x 20 cm. The experimental followed a design randomized blocks in a factorial scheme (2x3) +1, the first factor, *Azospirillum* with and without rooting growth and second factor, levels of nitrogen in coverage, 0%, 50% and 100% of fertilizer recommendation and a control with conventional fertilization, with four replications. At mean doses of 50% N in coverage, both AzBr and the AzBr plus rooting association showed a significant increase in fresh shoot and root mass of 19.36% and 23.66%, respectively, in relation to maximum dose of N and the control. The shoot dry mass did not differ significantly in the different treatments, although it has shown a small increase with increasing doses of N. The dry root mass decreased 29.24% in the treatment with 100% N, when compared to treatment without nitrogen cover more AzBr. The final plant stand was significantly higher in the treatment in which N was not applied in coverage, especially inoculation with AzBr, mean of 96.98% of established plants, against 51.56% in conventional control, observing that average dose of N, there was a greater tolerance of plants to symptoms of leaf mining and the viruses of Tospovirus Group.

Key words: *Lactuca sativa* L.; Nitrogen in coverage; Productivity.

*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 18/06/2016; aprovado em 15/03/2017

¹Dr. em Fitotecnia, UFLA, Lavras, antonio.anicete@ifro.edu.br

¹Dr. em Agronomia, UFGD, Dourados, luciano.venturoso@ifro.edu.br

²Graduado em Licenciatura em Ciências Biológicas, IFRO, Ariquemes, bruno.silva@ifro.edu.br

³Técnica em Agropecuária, IFRO, Ariquemes, aniquely.ifroagro2013@gmail.com

⁴Mestrando em Física, UNIR, Porto Velho, osvino.schimidt@ifro.edu.br



INTRODUÇÃO

A alface se destaca por ser a folhosa mais consumida no Brasil e a 3ª hortaliça em maior volume de produção, perdendo apenas para a melancia e o tomate, segundo a Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudanças (ABCSEM, 2014). No ano de 2011 foram produzidas no Brasil 1.878 milhões toneladas de alface, cultivada numa área 79.800 ha ano⁻¹, apresentando uma produtividade média de apenas 16 t ha⁻¹ (MELLO, 2015).

A produção de alfaces nas condições climáticas da região amazônica apresenta grandes desafios especialmente em relação aquelas do tipo repolhudas, exigentes em temperaturas mais amenas. Temperaturas acima de 25 °C, favorecem a fase reprodutiva e ao pendoamento precoce, reduzindo a produtividade (RESENDE et al., 2005). No entanto, altas temperaturas e baixa umidade relativa do ar que ocorre no período seco são as condições climáticas mais favoráveis a altas infestações de tripses e moscas minadoras (ALENCAR; DIAS, 2010).

A busca por maiores produtividades com maior rentabilidade passa pela melhoria do solo e da nutrição vegetal, em especial da adubação nitrogenada (MALAVOLTA, 2006) e o aumento na capacidade da planta de explorar o solo através do crescimento de raízes, aumentando a absorção de água e nutrientes.

Os benefícios causados pelas rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) podem ser verificados em diversas culturas, dentre as quais se destaca o crescimento de raízes em alface (FREITAS et al., 2003). As RPCPs mais conhecidas são as do gênero *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Rhizobium* as quais, apresentam, como principais características, capacidade de fixação biológica de N, aumento da atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas, produção de hormônios como auxinas, citocininas, giberilinas (RODRIGUEZ et al., 2004; CASSÁN et al., 2009) e o crescimento de raízes que favorecem a absorção de água e nutrientes (DUBROVSKY et al., 1994).

Produtos comerciais caracterizados como enraizador de crescimento são fertilizantes específicos sendo considerados ativadores de nódulos. Presente na composição desses produtos, o molibdênio faz parte de duas enzimas importantes no metabolismo do nitrogênio, a nitrogenase, essencial à fixação de N atmosférico nos nódulos produzidos pelos bacteroides, e a redutase do nitrato, importante para o aproveitamento do nitrato absorvido pela planta (VIEIRA, 1994). Por outro lado, o Co, também componente presente nesses fertilizantes, influencia na absorção de N porque faz parte estrutural das vitaminas B₁₂, necessárias a síntese de leghemoglobina, importante no transporte de oxigênio para produção de energia na forma de ATP, utilizado na fixação de N na forma de amônia (MENGEL; KIRKBY, 2001).

Resende (2009) estudando diferentes doses de nitrogênio e molibdênio em alface, observou um maior teor de matéria seca comercial com as doses de 95,9 kg ha⁻¹ de N adicional e 75,3 g ha⁻¹ de Mo, evidenciando que a função mais importante desse nutriente está relacionado ao metabolismo do nitrogênio. O Mo faz parte da enzima redutase do nitrato que catalisa a redução biológica do NO₃⁻ a NO₂⁻, que é o primeiro passo para a incorporação do nitrogênio, como NH₂ em proteínas pelas plantas (MARSCHNER, 1995), aumentando consequentemente a

produtividade das hortaliças e diminuindo os sintomas de deficiência de nitrogênio.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da inoculação de *A. brasilense* em associação com enraizador, sob diferentes doses de nitrogênio, na cultura da alface, para análise do crescimento, da produção de biomassa fresca e seca da parte aérea e de raízes da planta e da tolerância a pragas e doenças.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Setor de Olericultura do Instituto Federal de Rondônia, campus Ariquemes, no período de agosto a setembro de 2015. O solo do campo experimental é do tipo Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (LVAd) e o clima, segundo a classificação de Köppen é do grupo tropical chuvoso, tipo Aw, com total pluviométrico anual oscilando entre elevado e moderadamente elevado e nítido período de estiagem, com média anual de precipitação entre 1.400 a 2.600 mm, e temperatura média anual do ar variando entre 24 a 26 °C (SEDAM, 2012).

O delineamento experimental foi de blocos casualizados, em esquema fatorial (2x3)+1, sendo os tratamentos assim constituídos: o primeiro fator *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5 e AbV6, com e sem enraizador de crescimento contendo Mo e Co e o segundo fator doses crescentes de nitrogênio em cobertura variando de 0%, 50% e 100% da recomendação de adubação e uma testemunha com adubação convencional, sem enraizador e sem *A. brasilense*, com quatro repetições. A parcela experimental foi constituída por 8 plantas, duas plantas por vaso, sendo o espaçamento adotado 40 x 20 cm (entre vasos e entre plantas no mesmo vaso). No final do ciclo foram escolhidas quatro plantas para a avaliação dos dados. A semeadura direta foi realizada no dia 19 de agosto de 2015, em bandejas de plástico com capacidade de 8,0 L. No experimento foi utilizada a cultivar de alface Lucy Brown, tipo repolhuda crespa. O solo natural sem autoclavagem, antes da correção e adubação, apresentou, na camada de 0-20 cm, as seguintes características químicas e físicas: pH (CaCl₂) = 5,9; em (mmolc.dm⁻³), Ca⁺² = 3,41; Mg⁺² = 2,26; K⁺ = 0,16; Al⁺³ = 0,09; H⁺+Al⁺³ = 3,8; V = 60,5%; em (mg dm⁻³), P (mel.) = 3,0; S = 8,9; B = 0,12; Cu = 0,4; Fe = 147; Mn = 18,9; Zn = 2,1; Na = 5,6; e em (g dm⁻³), argila = 515; silte = 75 e areia = 410.

Em todos os tratamentos foi realizada a calagem de acordo com a análise de solo e elevação da saturação por bases a 80%. A adubação foi realizada 15 dias antes da semeadura, baseada na análise de solos e na recomendação de adubação de Trani (2014), sendo aplicados na base 40 kg ha⁻¹ de N, 360 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 40 kg ha⁻¹ de K₂O para todos os tratamentos; e em cobertura, 40 kg ha⁻¹ de N e 40 kg ha⁻¹ de K₂O, em duas aplicações semanais, a partir dos 25 dias após a semeadura (DAS), apenas na testemunha e na dosagem de 100% da recomendação de N. Os tratamentos com 0% e 50% da recomendação de adubação não receberam cobertura N, mas apenas a aplicação de K₂O na dose de 40 kg ha⁻¹ de K₂O, mais 6,0 L m⁻² de composto orgânico.

O enraizador utilizado no experimento é um fertilizante específico considerado com ativador de enraizamento e recomendado para leguminosas, contendo, em sua composição, 70 g L⁻¹ de Mo e 14 g L⁻¹ de Co. O enraizador foi aplicado via solo, junto com água de irrigação,

diretamente na bandeja, uma semana antes da semeadura na dosagem de 300 ml ha⁻¹, considerando um volume de calda de 150 L ha⁻¹. A aplicação do *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5 e AbV6 foi realizada seis dias após a semeadura (DAS), juntamente com a água de irrigação, na dosagem de 200 ml ha⁻¹.

As irrigações foram realizadas diariamente por microaspersão de acordo com as fases de crescimento da cultura, exigindo, na fase de crescimento, até três regas diárias, o equivalente a, aproximadamente, uma lâmina líquida de 3,65 mm dia⁻¹. O controle da larva mimadora (*Liriomyza huidobrensis* Blanch.) e de tripes (*Frankliniella* spp) foi realizado semanalmente, alternando-se os princípios ativos Ciromazina, 100 g ha⁻¹ do produto comercial (pc) e imidacloprid 200 ml ha⁻¹ do p.c. (WEINTRAUB, 2001; LABINAS; CROCOMO et al., 2002).

Aos 48 dias após a semeadura (DAS) devido ao intenso ataque de viroses do grupo Tospovirus (família *Bunyaviridae*) transmitidos por tripes (*Frankliniella* spp) foram coletadas aleatoriamente duas plantas por parcela, sendo avaliada na ocasião da colheita, o estande final, número de plantas com sintomas de Tospovirus, número de folhas minadas por planta, número de minas por plantas, altura de planta, circunferência de cabeça, diâmetro do caule, comprimento do caule e biomassa fresca e seca da parte aérea, de raízes e total. A avaliação da presença de Tospovirus, principalmente vira cabeça, foi feita de forma sintomática observando-se manchas necróticas nas folhas e estrias necróticas nas nervuras centrais, provocando elevadas perdas na produção devido a morte de plantas (CHO et al., 1987; MARCHOUX et al., 1991). Foram coletadas, ao acaso, duas plantas de cada tratamento, para a determinação de matéria seca da parte aérea e raízes. Para determinação da massa seca as cabeças e raízes foram lavadas e secas em estufas com circulação forçada de ar a 70 °C, até massa constante.

Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias dos diferentes tratamentos comparadas pelo teste de

Scott-Knott, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo de forma interativa entre as doses de nitrogênio e aplicação de *Azospirillum* com e sem enraizador no crescimento em relação a altura, diâmetro de caule e de cabeça, comprimento de raiz, biomassa fresca de caule e da parte aérea, exceto para o comprimento de caule avaliado, avaliado aos 48 DAS da alface (Tabela 1).

O nitrogênio apresentou efeito significativo (p<0,01) em relação à altura de plantas, observando-se um crescimento constante até a dose de média de 50% da recomendação de aplicação de N em cobertura, porém, não havendo diferença significativa em relação a maior dose de N e nem ao controle convencional (Tabela 1). Tanto o enraizador mais *Azospirillum*, quanto a inoculação com *Azospirillum*, apresentaram efeito praticamente similares em relação a altura média de plantas de 14,81 cm, na dose de 50% de recomendação de N, indicando a importância dessa bactéria no crescimento da planta, quando associada a doses médias de N.

Os dados dessa pesquisa indicam que o *Azospirillum* promoveu um aumento de médio de 9,86% no crescimento em altura da planta, mesmo na ausência do enraizador, com também foi observado por Barassi et al (2006), cultivando alface inoculada com *Azospirillum*, via semente e sob condições de estresse salino, sendo observado que em condições não-salinas essa bactéria diazotrófica promoveu um aumento de 56% na parte aérea da planta, quando em comparação com os controles não-inoculados. Segundo Bashan et al. (2004), o *Azospirillum* apresenta considerável capacidade de produzir ou modificar hormônios de plantas, incluindo as giberelinas, responsáveis pelo crescimento de caule, folhas, regulando a altura da planta.

Tabela 1. Altura de planta, comprimento de caule, diâmetro de caule e de cabeça, comprimento de raiz, massa fresca de raiz e da parte aérea e total de alface, cultivar Lucy Brown, inoculado com *Azospirillum brasilenses* na presença e ausência do enraizador e com aplicação de diferentes dose de nitrogênio em cobertura aos 48 dias após a semeadura (DAS). IFRO, Campus Ariquemes, Rondônia

Tratamentos Doses de N	Altura de planta		Comprimento de caule		Diâmetro de Caule		Diâmetro de cabeça	
	(cm)							
	Az + Enrz ⁽¹⁾	Az br ⁽²⁾	Az + Enrz	Az br	Az + Enrz	Az br	Az + Enrz	Az br
0% ⁽³⁾	11,85 b	10,93 b	2,28 a	2,10 a	1,08 b	1,04 b	16,13 b	13,28 b
50%	15,67 a	13,95 a	2,46 a	2,30 a	1,17 a	1,25 a	19,95 a	16,42 b
100%	15,39 a	13,80 a	2,73 a	2,39 a	1,25 a	1,35 a	18,72 a	20,90 a
Convencional	12,80 a		2,20 a		2,20 a		15,32 b	
CV(%)	9,89		15,64		15,64		10,62	
Tratamentos Doses de N	Comprimento de Raiz		Massa Fresca de Raiz		Mas. Fr. Da Parte Aérea		Massa Fresca Total	
	(g)							
	Az + Enrz ⁽¹⁾	Az br ⁽²⁾	Az + Enrz	Az br	Az + Enrz	Az br	Az + Enrz	Az br
0% ⁽³⁾	23,75 a	23,00 a	24,63 a	17,90 a	39,05 b	37,15 b	63,74 a	55,04 b
50%	20,25 a	20,00 a	17,03 b	14,71 b	60,54 a	59,37 a	67,02 a	68,04 a
100%	18,75 b	16,88 b	14,63 b	18,63 a	55,48 a	71,28 a	75,25 a	82,62 a
Convencional	13,88 c		9,60 c		41,22 b		46,85 b	
CV(%)	10,46		18,28		14,90		14,61	

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes nas colunas diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, p≤0,05. Legenda: ⁽¹⁾ Az + Enrz – inoculado com *A. brasilenses* mais enraizador; Az br⁽²⁾ – inoculado com *Azospirillum brasilenses*.

**Significativo < 1% de probabilidade; *Significativo < 5% de probabilidade. ⁽³⁾ Adubação orgânica com 6,0 L de composto por m², fonte de N-orgânico.

O comprimento de caule não apresentou diferença significativa entre as doses de N, com média geral de 2,38 cm nos diferentes tratamentos *Azospirillum* com e sem enraizador, porém, sendo observado no tratamento enraizador mais *Azospirillum* um pequeno acréscimo de 9,10% em relação ao tratamento inoculado, apenas como *Azospirillum* (Tabela 1). O comprimento de caule é uma característica importante para a indústria, pois é descartado no momento do processamento. Sendo assim, caules muito compridos, maiores que 7,0 cm, representam perda de material e, conseqüentemente, diminuição no rendimento (YURI et al., 2004).

O diâmetro do caule foi influenciado de maneira significativa ($p < 0,05$) pelas doses de N, a partir da aplicação de doses médias de nitrogênio nos tratamentos inoculados com *Azospirillum*, tanto na presença, quanto na ausência do enraizador (Tabela 1). O incremento médio do diâmetro do caule em ambos os tratamentos a partir de doses médias de N foi de 18,40%, quando comparado com a menor dose de N, sendo ainda maior na testemunha com adubação mineral, cerca de 2,20 cm de diâmetro.

Na dose de 50% de N, o tratamento com *Azospirillum* mais o enraizador, apresentou um incremento médio significativo no diâmetro de cabeça de 17,69% maior do que no tratamento apenas com *Azospirillum* mais N na referida dose (Tabela 1). Resende et al. (2009) avaliando a produtividade e a qualidade da alface americana em função de doses de N e molibdênio, observaram que na dose de 85,3 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura e 72,9 g ha⁻¹ de Mo proporcionaram a maior circunferência ou diâmetro de cabeça comercial de 37,5 cm. A função mais importante do Molibdênio nas plantas está relacionada com o metabolismo do nitrogênio, pois, a redutase do nitrato é uma flavoproteína que possui Mo no grupo prostético, catalisando a redução biológica do NO₃⁻ a NO₂⁻, sendo esse o primeiro passo para incorporação do N, como NH₂, em proteínas, evitando o acúmulo de nitrato que é prejudicial à saúde (DECHEN et al., 1991; MALAVOLTA, 1980). Diante do que foi exposto, pode-se inferir que o enraizador contendo Mo e Co mais *Azospirillum*, favoreceu um aumento significativo no diâmetro de cabeça da alface, em doses médias e altas de N, entretanto, no tratamento apenas com *Azospirillum* apresentou maior incremento de diâmetro na dose máxima de nitrogênio, superando o tratamento convencional.

Houve interação entre os fatores *Azospirillum brasilense* x doses de nitrogênio ($p < 0,01$) no comprimento de raiz e massa fresca de raiz, observando-se uma tendência de redução com o aumento das doses de N, tanto com o enraizador, quanto com somente a inoculação de *A. brasilense* (Tabela 1). O incremento no crescimento radicular foi de 23,73% e 11,48% maior nas doses de 0% e 50%, respectivamente, nos tratamentos com enraizador mais *Azospirillum* e apenas com *Azospirillum*, quando comparado com a dose máxima de N e a adubação convencional.

Por outro lado, a massa fresca de raiz (MFRz), foi estatisticamente superior onde N não foi aplicado em cobertura, média de 24,63 g planta⁻¹, no tratamento com *A. brasilense* mais enraizador, porém, não apresentando diferença significativa na dose de 0% e 100% de N no tratamento somente com *Azospirillum* (Tabela 1). No entanto, a testemunha convencional apresentou produção de MFRz significativamente inferior aos demais tratamentos de apenas 9,60 g planta⁻¹, indicando a importância dos dois fatores

pesquisados no crescimento e desenvolvimento de raízes. Os dados indicam que doses altas de nitrogênio no ambiente diminuem o crescimento principalmente de raízes, o que provavelmente possa está relacionado a sua interferência na atividade e/ou síntese da enzima nitrogenase que é inibida na presença de formas combinadas de N, como nitrato e amônia (STEEHOUDT; VANDERLEYDEN, 2000).

Os efeitos referentes a produção de biomassa fresca e ao crescimento de raízes atribuídos a *A. brasilense* foram, também, relatados por Madhaiyan et al. (2010), os quais observaram que essa bactéria é capaz de produzir ácido indolacético em meio de cultura, aumentando significativamente o comprimento de raízes em tomate e pimentão em relação aos tratamentos controle. Esses mesmos dados haviam sido confirmados por Cassán et al. (2009) em milho e soja, os quais relataram ainda os efeitos de *A. brasilenses* na capacidade de promover o enraizamento e a formação de nódulos, devido a excreção de produtos metabólicos reguladores do crescimento da raiz, tais como: o ácido indolacético, o ácido giberélico e a zeatina.

As doses de nitrogênio apresentaram efeito significativo ($p < 0,01$) em relação a produção de massa fresca da parte aérea da planta (MFPA), sendo os maiores valores observados a partir da dose de 50% de N, cuja média foi de 59,96 g planta⁻¹ para *Azospirillum* com e sem enraizador (Tabela 1). No entanto, o tratamento com *Azospirillum* na dose máxima de N apresentou um incremento não significativo de 16,71% de MFPA em relação a dose média de N, observando-se nesse caso, que a bactéria apresentou maior eficiência no aproveitamento de N. Pesquisando doses de nitrogênio e a inoculação com *A. brasilense* em milho, Morais (2012) observou que a dose de inoculante de 200 ml ha⁻¹ associado a dose de 200 kg ha⁻¹ de N melhorou a assimilação de nutrientes pelas plantas e aumento da biomassa da parte aérea da planta, devido a uma maior taxa de absorção de água e nutrientes e a modificações na morfologia do sistema radicular, as quais, segundo Bashan et al. (2004), podem estar relacionadas também, a produção de fitormônios.

A massa fresca total da planta (MFTP) aumentou de forma significativa ($p < 0,05$) com as doses crescentes de N, apenas no tratamento com *Azospirillum*, variando de 55,04 a 82,62 g planta⁻¹, apresentando incremento de 17,65% entre a maior e a menor concentração desse nutriente, aplicado em cobertura (Tabela 1). O *Azospirillum* mais aplicação de N em cobertura, melhorou de forma significativa a produção de MFTP, provavelmente devido a um maior aproveitamento desse nutriente pela planta. Estudando o efeito da inoculação de *A. brasilense* no crescimento de plântulas de alface e pepino, Mangmang et al. (2015) observaram que as estirpes Sp7-S e Sp245 melhoraram significativamente o crescimento da parte aérea e o enraizamento. Isto ocorreu devido, a estirpe de *Azospirillum* Sp245 ter apresentado um aumento no nível endógeno do ácido indolacético (AIA) em pepino e alface.

Houve efeito significativo de forma interativa entre as doses de N x *Azospirillum* em relação a massa fresca da parte aérea da planta (MFPA) e massa seca de raiz (MFRZ), sendo observado que doses crescentes de nitrogênio aumentaram de forma significativa essa relação, a partir de doses médias, promovendo um incremento de 47,37% e 52,28 entre as doses zero e 50% de N, respectivamente, tanto com *Azospirillum* com e sem enraizador, porém, não diferindo da adubação convencional. (Tabela 2). A aplicação de *Azospirillum* permitiu provavelmente um maior aproveitamento no

transporte de N e de outros nutrientes, aumentando de forma significativa a relação MFPA, em doses médias de N. De modo similar aos resultados obtidos nesse trabalho Barassi et al. (2006), cultivando alfaces em diferentes doses de solução salina, observaram que as plantas inoculadas com *A.*

brasilense e irrigados com teores médios de salinidade, apresentaram peso de biomassa fresca e seca totais mais elevadas e a partição de biomassa para a parte aérea da planta foi maior do que nos controles não inoculados.

Tabela 2. Relação de massa fresca para parte aérea (MFPA) e massa fresca de raiz (MFRZ), massa seca da parte aérea, de raiz e total, estande final, percentual de plantas com sintomas de Tospovirus, número de folhas com minas parenquimáticas por planta, número total de minas por planta em alface, cultivar Lucy Brown, inoculado com *Azospirillum brasilense* na presença e ausência do enraizador e com aplicação de diferentes dose de nitrogênio em cobertura, aos 48 dias após a semeadura. IFRO, Campus Ariquemes, Rondônia.

Tratamentos Doses de N	MFPA/MFRZ (Un.)		Mas. Sec. Parte Aérea		Massa Seca de Raiz g planta ⁻¹		Massa Seca Total	
	Az + Enrz ⁽²⁾	Az br ⁽³⁾	Az + Enrz	Az br	Az + Enrz	Az br	Az + Enrz	Az br
0% ⁽⁴⁾	1,70 b	2,09 b	3,99 b	3,21 b	1,69 a	1,08 b	5,69 a	4,28 a
50%	3,23 a	4,38 a	5,65 a	4,85 a	1,09 b	0,99 b	6,73 a	5,65 a
100%	3,98 a	3,89 a	5,51 a	5,88 a	0,91 b	1,05 b	6,29 a	6,79 a
Convencional	4,36 a		3,84 a		0,66 c		4,90 a	
CV(%)	15,74**		17,12*		16,97*		15,75 ^{ns}	
Tratamentos Doses de N	Estande Final (%)		Incidência de Tospovirus ⁽¹⁾ (%)		Nº Fls. Com Minas Planta (Un.)		Nº de Minas por Planta (Un.)	
	Az + Enrz	Az br	Az + Enrz	Az br	Az + Enrz	Az br	Az + Enrz	Az br
0% ⁽⁴⁾	65,63 a	96,86 a	53,13 b	53,12 b	4,00 d	4,50 d	8,00 d	9,00 d
50%	53,13 b	56,25 b	46,87 b	68,75 a	4,00 d	6,63 c	8,00 d	13,25 c
100%	53,12 b	50,00 b	62,50 b	78,13 a	5,50 b	6,13 b	11,00 b	12,25 b
Convencional	40,63 b		81,25 a		8,13 a		16,25 a	
CV(%)	15,24**		5,36*		13,80**		13,80**	

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes nas colunas diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, p≤0,05. Legenda: ⁽¹⁾ Tospovirus (família *Bunyaviridae*) transmitidos por tripses (*Frankliniella* spp) – raças de vírus não identificadas; ⁽²⁾ Az + Enrz – inoculado com *A. brasilense* mais enraizador; Az br⁽³⁾ – inoculado com *Azospirillum brasilense*. **Significativo < 1% de probabilidade; *Significativo < 5% de probabilidade. ⁽⁴⁾ Adubação orgânica com 6,0 L de composto por m². Convencional – adubação mineral básica e em cobertura, de acordo com análise de solos e recomendação de adubação.

Os tratamentos apresentaram efeito significativo em relação a massa seca da parte aérea da alface (MSPA) (p<0,05), observando-se uma tendência de aumento com as doses crescentes de N, variando de 31,43%, entre a dose 0% de N e 50% de N em ambos tratamentos, com e sem enraizador mais *Azospirillum*, porém, não diferindo dos tratamentos com dose máxima de N e convencional. Esses dados evidenciam que o *A. brasilense* aumentou o teor de MSPA, mesmo em doses médias de nitrogênio, dispensando assim a aplicação de maiores quantidades desse nutriente (Tabela 2). Estudando o efeito da colonização de *Azospirillum* e micorrizas arbusculares (MA) em arroz sob condições de seca e irrigado, Ruiz-Sánchez et al. (2011), observaram que tanto a associação de *Azospirillum* com ou sem MA, melhorou o desempenho do Fotossistema II, com maior desempenho do aparato fotossintético e consequentemente do crescimento da planta e produção de carboidratos.

Doses crescente de nitrogênio diminuíram de forma significativa (p<0,01), a produção de massa seca de raiz (MSRZ) no tratamento com *Azospirillum* mais enraizador sendo que esse decréscimo foi de 46,15% entre a menor e a maior dose de 100% de N (Tabela 2). Nesse caso, as altas doses de N diminuíram o crescimento de raízes, devido provavelmente ao transporte desse nutriente ter favorecido a um maior produção de biomassa seca da parte aérea da planta. No tratamento apenas com *Azospirillum*, a MSRZ não diferiu estatisticamente com o aumento de N, com média de 1,04g planta⁻¹, indicando, provavelmente, melhor funcionamento da enzima fixadora de N no bacteroide. Nesse caso, BARASSI et al. (2006) observaram que a inoculação de sementes de alface

com *Azospirillum* promoveu aumento da germinação e do crescimento de raízes em relação aos controles, mesmo a planta sendo submetida a salinidade com NaCl.

Em geral, a inoculação de *Azospirillum* promove alterações morfológicas nas raízes, aumentando o número e comprimento de raízes laterais, de pêlos absorventes, bem como, a área de superfície de raízes, pois essa bactéria promove aumento nos níveis de substâncias de crescimento que apontam o envolvimento de auxina, influenciando na promoção do crescimento (MOLLA et al., 2001; BASHAN et al., 2004) em leguminosas e gramíneas.

Não houve efeito significativo dos tratamentos na massa seca total da alface (MST), tanto com ou sem enraizador mais *Azospirillum*, apresentando médias de 6,24 e 5,57 g planta⁻¹, respectivamente (Tabela 2). Da mesma forma, outros trabalhos de pesquisa com milho, trigo, aveia, indicam que a aplicação de diferentes doses do inoculante *A. brasilense* não promoveram o incremento no acúmulo de massa seca da parte aérea (CAMPOS et al., 1999; ROBERTO et al., 2010). Todavia, resultados diferentes foram relatados por Silva et al. (2005) e Reis Júnior et al. (2008) com milho inoculado com *A. amazonense*, pois, foi verificado maior produção de matéria seca, quando comparado às plantas não inoculadas, nesse caso, ao que parece esse resultado, depende da especificidade da estirpe utilizada com a espécie vegetal inoculada.

Doses crescentes de N diminuíram de forma significativa (p<0,01) o estande final de plantas (EFP), tanto nos tratamentos sem e com enraizador mais *Azospirillum* (Tabela 2). No entanto, o maior percentual de plantas

estabelecidas no final da colheita, ocorreu no tratamento com *Azospirillum*, apresentando uma diferença média de 10,41% em relação aos tratamentos com enraizador mais *Azospirillum*. No tratamento sem aplicação de N em cobertura e inoculação com *Azospirillum*, o percentual de plantas que sobreviveram ao ataque de viroses transmitidas por tripes e a Larva-minadora (*Liriomyza huidobrensis* Blanch.) foi de 96,86% contra 65,63% no tratamento em que a referida bactéria foi utilizada com o enraizador. Esses dados indicam que *A. brasilense* aumentou a tolerância da planta a viroses do Grupo Tospovirus transmitidos por tripes (*Frankliniella* spp) em 31,23% na dose 0% de N em cobertura.

No entanto, o percentual de plantas com incidência de Tospovirus foi praticamente igual nos diferentes tratamentos, com médias de 54,17% e 66,67% nos tratamentos com *Azospirillum*, com e sem enraizador, respectivamente (Tabela 2). Os dados indicam que o *Azospirillum* mais enraizador foi mais eficiente no controle da virose na dose média de 50% N e o *Azospirillum* na dose de 0% de N. Observou-se, portanto, que doses maiores de N favoreceram ao ataque de pragas e doenças da alface, dificultando o seu estabelecimento no campo em épocas em que as condições climáticas são mais favoráveis a proliferação de insetos-pragas. Há evidências experimentais que o excesso de N provoca deficiência de K, Ca, Mo, Fe, Cu e Mn, prejudicando a proteossíntese, acumulando N na forma de nitrato, dado que esses nutrientes ativam as flavoproteínas que reduzem NO_3^- a NH_3^+ (SEVERINO, 2001).

Segundo a Teoria da Trofobiose desenvolvida por Chaboussou (1978) o ataque de pragas e doenças nos cultivos é um efeito, cuja causa entre outras, está no desequilíbrio metabólico da planta, influenciando na inibição da proteossíntese, ou seja, na formação de proteínas, ocorrendo o acúmulo de aminoácidos, açúcares redutores, esteróis, vitaminas e outras substâncias livres e solúveis no tecido vegetal. Este acúmulo de produtos solúveis favorece e atrai a alimentação por parte de insetos, fungos e bactérias. Portanto, todo organismo vegetal pode ficar vulnerável à infestação de pragas e doenças quando há excessos de aminoácidos livres e açúcares redutores na células, devido a assimilação do N ser limitada e o metabolismo das proteínas sofrer distúrbios (LARCHER, 2001, VILANOVA; SILVA JÚNIOR, 2009).

O número de folhas com minas por planta (NFMP) e o número de minas parenquimáticas por planta (NMP) produzidas pelo ataque da *Liriomyza huidobrensis* Blanch., foram influenciadas pela interação dose de N x *Azospirillum* com e sem enraizador, bem como pelas doses de N ($p < 0,01$). Tanto o NFMP, quanto o NMP, aumentaram com as doses de N de forma constante no tratamento com o *Azospirillum*, sendo o maior valor observado no controle convencional e na dose 100% da recomendação de N com médias de 16,3 e 8,2 e minas planta⁻¹, respectivamente. Por outro lado, foi observado que o enraizador mais o *Azospirillum* exerceu um controle mais significativo da larva-minadora até dose média de 50% de N sendo essa diferença de 39,62%, quando comparado com a inoculação apenas com a referida bactéria na mesma dose. Logo, pode-se concluir que o enraizador tenha exercido um certo efeito no controle da Larva-minadora, provavelmente devido favorecer o metabolismo do N, favorecendo a proteossíntese e diminuindo o acúmulo de aminoácidos livres.

O enraizador contendo molibdênio é um componente da redutase do nitrato e da nitrogenase, enzimas essas envolvidas

na redução de nitrato para nitrito e de nitrogênio para amônio, aumentando a assimilação de NH_2 formando aminoácidos livres em proteínas (FAQUIN, 2005) dificultando a alimentação de pragas. A falta de Mo pode diminuir a resistência da planta a pragas por impedir a produção de redutase do nitrato, enzima importante no metabolismo do nitrogênio e a produção de proteínas (SPANN e SCHUMANN, 2015).

CONCLUSÕES

Em doses médias de 50% da recomendação de N em cobertura, tanto o *A. brasilense* quanto a sua associação com o enraizador, influência de forma significativa na altura de planta, no diâmetro de cabeça, massa fresca e seca da parte aérea, porém, não diferindo da dose máxima de N e nem do tratamento convencional.

O *Azospirillum* confere maior tolerância da alface a viroses do grupo Tospovirus, principal agente causador da morte de plantas, enquanto o *Azospirillum* mais enraizador atenua os efeitos da Larva-minadora em menores doses de N em cobertura.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES. 2º Levantamento de dados socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil. Holambra, SP, ABCSEM, 29 de maio de 2014. 58p. Disponível em: http://www.abcsem.com.br/imagens_noticias/ Apresenta% C3% A7% C3% A3o% 20 completa. Acesso em: 08 de maio de 2016.
- ALENCAR, J.A de; DIAS, R de C.S. Sistema de produção de melancia: pragas. Brasília: Embrapa semiárido, agosto de 2010. (Sistema de Produção, 6).
- BARASSI, C. A.; AYRAULT, G.; CREUS, C. M.; SUELDO, R. J.; SOBRERO, M. T. Seed inoculation with *Azospirillum* mitigates NaCl effects on lettuce. *Scientia Horticulturae*, v.109, p.8-1, 2006.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L. E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997–2003). *Canadian Journal of Microbiology*, v. 50, n. 8, p. 521–577, 2004.
- CAMPOS, B. C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. Avaliação do inoculante “Graminante” nas culturas de trigo e aveia. *Ciência Rural*, v. 29, n. 3, p. 401-407, 1999.
- CASSÁN, F.; PERRIG, D. SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. Corrigendum to *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of Soil Biology*, v. 45, n. 1, p. 28–35, 2009.
- CHABOUSSOU, F. Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: a teoria da trofobiose. Tradução de GUAZELLI, M. J. Porto Alegre: L&PM, 1987. 256p.

- CHO, J. J.; MITCHELL, W. C.; MAU, R. F. L.; SAKIMURA, K. Epidemiology of tomato spotted wilt virus disease on crisphaed lettuce in Hawaii. *Plant Disease*, v. 71, p. 505-508, 1987.
- CHUNG, R. M.; AZEVEDO FILHO, J. A de; COLARICCIO, A. Avaliação da reação de genótipos de alface (*Lactuca sativa* L.) ao *Lettuce mosaic virus* (LMV). *Revista Bragantia*, v. 66, n.1, p. 61-68, 2007.
- DECHEN, A. R.; HAAG, H. P.; CARMELLO, Q. A. C. Funções de micronutrientes nas plantas. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. (Ed.). *Micronutrientes na agricultura*. Piracicaba: POTAFOS/CNPq, p. 65-78, 1991.
- DUBROVSKY, J. G.; PUENTE, M. E. et al. *Arabidopsis thaliana* as a model system for study of the effect of inoculation by *Azospirillum brasilense* Sp-245 on root hair growth. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 26, n. 2, p. 1665-1664, 1994.
- FAQUIN, V. *Nutrição Mineral de Plantas*. Lavras: UFLA / FAEPE, 2005. 186p.: il.
- FERREIRA, D. F. Sistema de análise estatística para dados balanceados (SISVAR). Lavras: UFLA – DEX, 2000.
- FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; DONZELI, V. P. Promoção de crescimento de alface por rizobactérias. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 27, p. 61-70, 2003.
- LABINAS, A. M., CROCOMO, W. Use of thiamethoxam in bean pest control. In: *International Congress of Entomology*, 21, 2000, Foz do Iguaçu. Resumos... Manaus: Sociedade Brasileira de Entomologia, p. 66, 2000.
- LARCHER, W. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: RiMa, 2001. 531p.
- LOPES, C. A.; QUEZADO-DUVAL, A. M.; REIS, A. Doenças da alface. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2010. 68 p. MADHAIYAN, M.; POONGUZHALI, S.; KANG, B-G.; LEE, Y-J.; CHUNG, J-B.; SA, T-M. Effect of coinoculation of methylotrophic *Methylobacterium oryzae* with *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia pyrrocinia* on the growth and nutrient uptake of tomato, red pepper and rice. *Plant and Soil*, v. 328, n. 1, p. 71–82, 2010.
- MALAVOLTA, E. *Elementos de nutrição mineral de plantas*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.
- MALAVOLTA, E. *Manual de nutrição Mineral de plantas*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2006. 638 p.
- MANGMANG, J. S.; DEAKER, R.; ROGERS, G. Early seedling growth response of lettuce, tomato and cucumber to *Azospirillum brasilense* inoculated by soaking and drenching. *Horticultural Science*, v. 42, n. 1, p. 37-46, 2015.
- MARCHOUX, G.; GÉBRÉ-SELASSIE, K.; VILLEVIEILLE, M. Detection of tomato spotted wilt virus and transmission by *Frankliniella occidentalis* in France. *Plant Pathology*, v. 40, p. 347-351, 1991.
- MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plant*. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1995. 889 p.
- MELLO, S da C. *Agronegócio da alface no brasil*. Piracicaba: ESALQ/USP, 2011. 96 p. Disponível em: www.lpv.esalq.usp.br/lpv0621/ALFACE.pdf. Acesso em: 14 de maio de 2016.
- MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. *Principles of plant nutrition*. 5 ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. 849 p.
- MOLLA, A. H.; SHAMSUDDIN, Z. H.; AND SAUD, H. M. Mechanism of root growth and promotion of nodulation in vegetable soybean by *Azospirillum brasilense* *Commun. Soil Science and Plant Analysis*, v. 32, p. 2177–2187, 2001.
- MORAIS, T. P de. *Adubação nitrogenada e inoculação com Azospirillum brasilense em híbridos de milho*. 2012. 82 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Departamento de Fitotecnia, Uberlândia, 2012.
- PINHEIRO, S.; BARRETO, S. B. “MB-4”: Agricultura Sustentável, Trofobiose e Biofertilizantes. Porto Alegre: Fundação Junqueira Candiru, MIBASA, 1996. 273 p.
- REIS JÚNIOR, F. B.; MACHADO, C. T de T.; MACHADO, A.T .; MENDES, I de C.; MEHTA, A. Isolamento, caracterização e seleção de estirpes de *Azospirillum amazonense* e *Herbaspirillum seropedicae* associados a diferentes variedades de milho cultivadas no cerrado. Planaltina: EMBRAPA-CERRADOS, 2008, 36 p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento EMBRAPA-CERRADOS, ISSN 1676-918X, n. 206).
- RESENDE, G. M.; ALVARENGA, M. A. R.; YURI, J. E.; MOTA, J. H.; SOUZA, R. J.; RODRIGUES JÚNIOR, J. C. Produtividade e qualidade pós-colheita da alface americana em função de doses de nitrogênio e molibdênio. *Horticultura Brasileira*, v. 23, n. 4, p.976-981, 2005.
- RESENDE, G. M.; ALVARENGA, M. A. R.; YURI, J. E.; SOUZA, R. J.; MOTA, J. H.; RODRIGUES JUNIOR, J. C. Rendimento e teores de macronutrientes em alface tipo americana em função de doses de nitrogênio e molibdênio em cultivo de verão. *Ciência Agrotécnica*, v. 33, n. 1, p. 153-163,2009.
- ROBERTO, V. M. O.; SILVA, C. D.; LOBATO, P. N. Resposta da cultura do milho à aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente. In: *Congresso Nacional de Milho e Sorgo*, 28, 2010, Goiana. Anais... Goiana: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, p.2429-2434, CD-ROOM.
- RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T. et al. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. *Naturwissenschaften*, v. 91, p. 552-555,2004.

RUÍZ-SÁNCHEZ, M.; ARMADA, E.; MUÑOZ, Y.; SALAMONE, I.E.G de; AROCA, R.; RUÍZ-LOZANO, J.M.; AZCÓN, R. *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. *Journal of Plant Physiology*, v. 168, p. 1031–1037, 2011.

SECRETARIA DO ESTADO DO DESENVOLVIMENTO AMBIENTAL. Boletim climatológico de Rondônia, v. 12, 2010. Porto Velho: GOVERNO DE RONDÔNIA - COGEO: SEDAM, 2012.

SEVERINO, F.J. Teoria da trofobiose. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Departamento de Produção Vegetal, p. 1-33, 2001. (Seminários em Fitotecnia).

SILVA, E. C da; BUZETTI, S.; GUIMARÃES, G. L.; LAZRINI, E.; SÁ, M. E de. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio na cultura do milho em plantio direto sobre Latossolo Vermelho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 29, p. 335-362, 2005.

SPANN, T. M.; SCHUMANN, A. W. Mineral nutrition contributes to plant disease and pest resistance. Florida: University of Florida, IFAS Extension, 2015. 4 p.

STEEHOUDT, O.; VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiology, Reviews*, v. 24, n. 4, p. 487-506, 2000.

TRANI, P. E. Calagem e Adubação para hortaliças sob cultivo protegido. Campinas: IAC – Instituto Agronômico de Campinas, Centro Horticultura, março de 2014. 25 p.

VIEIRA, R. F. Aplicação foliar de molibdênio e seu efeito nas atividades da nitrogenase e redutase do nitrato no feijoeiro em campo. 1994. 188 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

VILANOVA, C.; SILVA JÚNIOR, C. D da. Teoria da Trofobiose sob a abordagem sistêmica da agricultura: eficácia de práticas em agricultura orgânica. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 4, n. 1, p. 39-50, 2009.

WEINTRAUB, P. G. Effects of cyromazine and abamectin on the pea leafminer *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae) in potatoes. *Crop Protection*, v. 20, n. 3, p. 207-213, 2001.

YURI, J. E.; RESENDE, G. M.; RODRIGUES JÚNIOR, J. C.; MOTA, J. H.; SOUZA, R. J. Efeito de composto orgânico sobre a produção e características comerciais de alface americana. *Horticultura Brasileira*, v. 22, n. 1, p. 127-130, 2004.