

INOCULAÇÃO DE *Azospirillum sp.* EM PLANTAS DE MILHO

BARROS, Marjorie Taila Souza; BAGDAL, Cleyton Magiel; NICOLETTI, Bartolomeu Gabriel; RABELO, Guilherme Fischer de Brito; DAL BEM, Edjair Augusto

RESUMO

Bactérias benéficas como o *Azospirillum sp.* podem trazer ganhos para o agricultor sem a necessidade de grandes investimentos com fertilizantes químicos, em especial os nitrogenados. Essas bactérias captam o nitrogênio da atmosfera e transformam-nas em nitrogênio assimilável pelas plantas. Esse processo, é chamado de Fixação Biológica de Nitrogênio. Com isso este trabalho tem o objetivo de relatar informações sobre a bactéria promotora de crescimento *Azospirillum spp.*, assim como sua inoculação às plantas de milho (*Zeamays L.*), demonstrando seu potencial como bactéria fixadora de nitrogênio em gramíneas.

Palavras chave: gramíneas, fixação biológica, nitrogênio, bactérias, promotores de crescimento.

ABSTRACT

Beneficial bacteria like *Azospirillum sp.* can bring gains to the farmer without the need for large investments with chemical fertilizers, especially nitrogen fertilizers. . These bacteria capture the nitrogen of the atmosphere and transform them into assimilable nitrogen by the plants. This process is called the Biological Nitrogen Fixation. The objective of this work was to report information on the growth promoting bacterium *Azospirillum spp.*, As well as its inoculation to maize (*Zea mays L.*) plants, demonstrating its potential as nitrogen fixing bacteria in grasses from.

Key words: Grasses, biological fixation, nitrogen, bacteria, growth promoters

1. INTRODUÇÃO

Segundo Hungria et al. (2010), em gramíneas a adoção desta tecnologia pode proporcionar redução de 50% no uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos. Além de acelerar a taxa de germinação de sementes e incrementar a produção de matéria seca e o acúmulo de N² na planta, aumentando a produção de grãos a partir da inoculação em gramíneas (FAGES, 1994; FALLIK e OKON, 1996; PANDEY et al., 1998).

Entretanto Szilagyi-Zecchin et al. (2017), em sua pesquisa relata que na relação entre *A. brasilense* e plantas de milho, o sítio alvo das alterações morfofisiológicas pode ser a parte aérea, sendo no trabalho observado aumento da

massa seca de parte aérea em Sete Lagoas e Eldorado do Sul, mas que não necessariamente se refletiu em maior produtividade. Corroborando, Costa et al. (2015) e Quadros et al. (2014) que encontraram respostas semelhantes envolvendo milho e as mesmas estirpes com outras espécies de *Azospirillum*.

Em ensaio com *Sorghum bicolor* L. Moench cultivado em hidroponia, a senescência foliar foi retardada nas plantas inoculadas com *A. brasiliense* favorecendo, assim, o acúmulo de matéria seca e a produção de grãos (SARIG et al., 1990). Para DÖBBELAERE et al. (2003), essa contribuição das bactérias é maior quando as plantas recebem doses variáveis de fertilizante nitrogenado.

Didonet et al. (1996) já chamavam a atenção para a maior eficiência na relação bactéria-planta em razão da adição de fertilizante nitrogenado, quando comparado ao uso isolado da bactéria. Esses autores observaram que a produção de grãos de trigo por plantas oriundas de sementes inoculadas com *A. brasiliense*, e complementado com 15 kg de N ha⁻¹, não diferiu do tratamento que recebeu na adubação de cobertura, mais 45 kg de N ha⁻¹. Apesar de vários estudos demonstrarem os efeitos benéficos do uso de *Azospirillum*, a contribuição da fixação biológica tem sido questionada uma vez que a transferência do N fixado para a planta ocorre muito lentamente e apenas uma pequena parte torna-se disponível para o vegetal (DOMMELEN et al., 1998) e as bactérias não secretam altas quantidades de amônia durante o crescimento diazotrófico (STEENHOUDT e VANDERLEYDEN, 2000).

Mesmo com uma inoculação uniforme, os resultados variaram entre os locais. Baseado nos fatos de que a eficiência da inoculação para produção de grãos varia de acordo com o genótipo da planta, solo e ambiente. Sendo dependente também do genótipo do milho, pois o benefício da inoculação pode ser observado em diferentes partes da planta, como parte vegetativa ou grãos (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2017).

Deste modo, a capacidade das bactérias de produzir substâncias promotoras do crescimento, promover aumento da taxa de absorção de minerais pelas raízes e suprimir doenças pela competição com microorganismos fitopatogênicos tem sido levado em consideração (LAMBRECHT et al., 2000; BERG, 2009; CASSAN et al., 2001).

Costa et al., (2015), e Szilagyi-Zecchin et al. (2017) obtiveram a produtividade média dentro de um mesmo sistema de comparação, plantios de milho inoculados com as mesmas estirpes e concentração com aumento de 36% e 27%. Comparando-se a produtividade no nível de 0% de N, uma das localidades estudadas, apresentou um aumento de 946 kg ha⁻¹ (com 1 estirpe). Isso pode ter corrido pelo aumento no número de grãos, uma vez que a massa seca dos grãos não apresentou diferenças significativas. Já Quadros et al. (2014) constataram que *A. brasilense* aumentou o peso dos grãos, chegando a acréscimos de 750 kg ha⁻¹.

É comprovado por Arsac et al., (1990), Jacoud et al., (1998), Ribaud et al., (2001) e Walker et al. (2011) que a inoculação estimula uma série de reações bioquímicas entre raiz e bactéria (milho e *Azospirillum*), envolvendo a produção de vários metabólitos secundários, produzidos tanto pelas plantas como pelas bactérias inoculadas.

Neste sentido, Lambrecht et al. (2000) reportaram o maior crescimento devido à biossíntese e secreção bacteriana de auxina (principalmente, ácido indolacético – IAA) de plantas inoculadas com *Azospirillum*, segundo esses autores, a presença deste hormônio na rizosfera promoveria maior desenvolvimento do sistema radicular e, conseqüentemente maior absorção de água e nutrientes pelas plantas. Esta alteração na morfologia das raízes decorrente do IAA secretado por *Azospirillum* já foi comprovada em outro estudo com plantas de trigo (SPAEPEN et al., 2008).

De acordo com Casanovas et al. (2002), a inoculação de *Azospirillum* em milho aumentou o teor relativo de clorofila e o rendimento da matéria seca da parte aérea dos híbridos AS 1575 e SHS 5050, o peso de 1000 grãos do híbrido P32R48 e a estatura de planta do híbrido AS 1575. As bactérias inoculadas permaneceram em

quantidade viável nas raízes até o final do ciclo do milho, demonstrando uma boa sobrevivência pós inoculação. Para algumas características agrônômicas, a resposta do milho à inoculação depende do híbrido testado. Observaram ainda que a inoculação com *Azospirillum* aumentou o volume de raízes e incrementou o conteúdo de água das folhas, amenizando o estresse hídrico de plantas de milho, com redução de até 75% no suprimento de água.

Okon e Vanderleyden (1997) observaram aumentos do volume e alterações na arquitetura de raízes, com a inoculação desta bactéria. Este efeito pode ser benéfico para a cultura em épocas de ocorrência de baixa precipitação pluvial, visto que o milho é altamente exigente em água e o aumento da área superficial específica de raízes possibilita maior capacidade de absorção de água e nutrientes do solo.

Zemrany et al (2006), estudando a inoculação deste gênero em plantas de milho, (estudo este que durou por dois anos), observaram um maior crescimento de raízes e desenvolvimento de plantas no período vegetativo, porém não foi observado alterações no rendimento de grãos, e não altera a massa de mil grãos, a estatura de plantas, a altura de inserção da espiga principal nem o diâmetro do colmo. Complementando ainda que a aplicação de N em cobertura influência de modo positivo o rendimento de grãos de milho.

Entretanto Swedrzyńska e Sawicka(2000) e Hungria et al., (2010) encontraram aumentos no rendimento de grãos de milho, quando as plantas foram inoculadas, juntamente com doses de 20-24 kg ha⁻¹ de nitrogênio. Contudo no trabalho realizado por LANA et al (2012) os autores verificaram que a inoculação de *Azospirillum* proporcionou incrementos de 7 a 14% na produtividade de grãos de milho, mesmo sem a adição de nitrogênio.

No entanto a inoculação de *Azospirillum brasilense* em milho, no Brasil, há algum tempo que vem sendo referida como promissora, mostrando-se útil tanto para elevar a produção de grãos em 24-30% (Hungria et al., 2010), como para reduzir a dose de adubação nitrogenada em 40% (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2017).

Em média as quatro localidades estudadas nos testes feitos por Szilagyi-Zecchin et al. (2017), apresentaram ganhos significativos quanto ao uso da inoculação. Em que foi possível a obtenção de rendimentos idênticos ao uso de 50% da dose de N sem inoculação, usando apenas a estirpes Ab-V5 e 0% de N. E ainda, deve-se ressaltar que, ambos os tratamentos inoculados na dose de 50% de N alcançaram rendimentos idênticos aos que utilizaram 100% do mesmo, levando a uma economia de 50% no uso do nitrogênio.

Os resultados positivos do nitrogênio associado ao *Rhizobiumtropicici* podem estar relacionados ao efeito desse microrganismo como RPCPs. Segundo Osório Filho et al. (2016) a utilização de rizóbios em poáceas não visa substituir a adubação nitrogenada, mas sim promover o crescimento das plantas. Dartora et al. (2016) verificaram que o uso de um isolado de *Rhizobium sp.* associado a 30 kg. ha⁻¹ de N na semeadura do milho resultou em rendimento equivalente a aplicação de 160 kg. ha⁻¹ de adubo nitrogenado.

Marks et al. (2015) realizaram pesquisa sobre a inoculação de *Azospirillum brasilense* e metabólitos de *Rhizobiumtropicici* em milho e constataram aumento da massa seca da parte aérea, rendimento de grãos e acúmulo de N. Os autores atribuíram estes resultados a metabólitos que são produzidos por rizóbios e atuam na promoção do crescimento de plantas.

Cunha et al. (2014) com relação à altura de inserção da primeira espiga, comprimento e diâmetro de espiga e número de fileiras de grãos, verificou-se que não houve variação entre os tratamentos, no entanto, a inoculação não proporcionou efeito sobre o número de fileiras de grãos. não verificaram aumento no diâmetro de colmo, na altura de inserção de espiga e altura de plantas de milho com a inoculação com *A. brasiliense*. Observaram que a inoculação com *Azospirillum* em milho, promoveu aumento no comprimento médio das espigas.

O aumento das massas secas da raiz, colmo e total e nitrogênio acumulado devido à presença de *Azospirillum brasilense* na ausência do nitrogênio estão provavelmente relacionados à solubilização de nutrientes e produção de fitohormônios por esta espécie microbiana, tais como, auxinas, giberelinas e

citocininas, o que evidencia o efeito desta rizobactéria como promotora do crescimento de plantas. Pedrinho et al. (2010) observaram, em pesquisa sobre a atividade de microrganismos na rizosfera de milho, a solubilização de fosfato e produção de AIA por bactérias do gênero *Azospirillum*. O incremento de variáveis relacionadas ao crescimento do milho em função do uso de *Azospirillum brasilense* foi verificado por Costa et al. (2015) e Hungria et al. (2010). Contudo, Müller et al. (2016) não constataram efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* no teor de N foliar.

Como descrito por Argenta et al., (2003) a inoculação de *Azospirillum* em milho pode estimular o desenvolvimento de plantas no período vegetativo, aumentando a probabilidade de se obter um estande de plantas uniforme, maior resistência ao estresse hídrico e maior teor de clorofila nas folhas.

2. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A atividade benéfica de bactérias do gênero *Azospirillum* de acordo com o levantamento bibliográfico realizado, se demonstra bem estudada por pesquisadores brasileiros, porém, ainda é necessário que sejam realizadas pesquisas sobre sua interação com diferentes genótipos de milho, assim como comparações em diferentes regiões edafoclimáticas, visto que, quando alterado o tipo de solo ou o clima, alteram-se também os fatores que afetam a relação planta-bactéria.

3. REFERÊNCIAS

ARGENTA, G. et al. **Adubação nitrogenada em milho pelo monitoramento do nível de nitrogênio na planta por meio do clorofilômetro**. R. Bras. Ci. Solo, v.27, p. 109-119, 2003.

CASSAN, F. et al. **Azospirillumbrasiliense and Azospirillumlipoferum hydrolyze conjugates of GA20 and metabolize the resultant aglycones to GA1 in seedlings of Rice dwarf mutants.** Plant Physiology. Washington. v.125, n.4, p.2053-2058, 2001.

CASANOVAS, E.M., BARASSI, C.A., SUELDO, R.J., **Azospirillum inoculation mitigates water stress effects in maize seedlings.** Cereal Research Communications, 30:343-350. 2002.

COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. da S. F.; NAVES, D. C. de F.; SANTOS, C. B.; ROCHA, A. F. de S. **Efficiency of inoculant with Azospirillumbrasiliense on the growth and yield of second-harvest maize.** Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 304-311, jul./set. 2015.

CUNHA, F. N.; SILVA, N. F. da; BASTOS, F. J. de C.; CARVALHO, J. J. de; MOURA, L. M. de F.; TEIXEIRA, M. B.; ROCHA, A. C. da; SOUCHIE, E. L. **Efeito da Azospirillum brasilense na produtividade de milho no sudoeste goiano.** Revista Brasileira de Milho e Sorgo, Sete Lagoas, v. 13, n. 3, p. 261-272, set./dez. 2014.

DIDONET, A. D.; RODRIGUES, O.; KENNER, M. H. **Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com Azospirillum brasilense.** Pesquisa AgropecuariaBrasileria, v.31, p.645-651, 1996.

HUNGRIA, M.; YATES, M.G.; NEWTON, W.E., eds. **Nitrogen Fixation: from molecules to crop productivity.** Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, p.432. 2010.

LAMBRECHT, M. et al. **Índole 3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacterioplant interactions.** Trends in Microbiology. Canibridge. v.8, n.7, p.298-300, 2000.

MARKS, B. B.; MEGÍAS, M.; OLLERO, F. J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. **Maize growth promotion by inoculation with Azospirillum brasilense and metabolites of Rhizobium tropici enriched on lipo-chito oligosaccharides (LCOs).** AMB Express, London, v. 5, n. 1, p. 71, Dec. 2015.

MÜLLER, T. M.; SANDINI, I. E.; RODRIGUES, J. D.; NOVAKOWISKI, J. H.; BASI, S.; KAMINSKI, T. H. **Combination of inoculation methods of Azospirillumbrasiliense with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield.** Ciência Rural, Santa Maria, RS, v. 46, n. 2, p. 210-215, fev. 2016.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J., **Root-associated Azospirillum species can stimulate plants.** American Society of Microbiology News, 63:366-370. 1997.

OSÓRIO FILHO, B. D.; BINZ, A.; LIMA, R. F.; GIONGO, A.; SÁ, E. L. S. de. **Promoção de crescimento de arroz por rizóbios em diferentes níveis de adubação nitrogenada.** Ciência Rural, Santa Maria, RS, v. 46, n. 3, p. 478-485, mar. 2016.

PEDRINHO, E. A. N.; GALDIANO JÚNIOR, R. F.; CAMPANHARO, J. C.; ALVES, L. M. C.; LEMOS, E. G. de M. **Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho.** Bragantia, Campinas, v. 69, n. 4, p. 905-911, out./dez. 2010.

SARIG, S.; OKON, Y.; BLUM, A. **Promotion of leaf area development and yield in Sorghum bicolor inoculated with Azospirillumbrasilense.** Symbiosis. Philadelphia. v.9. p.235-245, 1990.

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

SWEDRZYNSKA, D. e SAWICHA, A., **Effect of inoculation with Azospirillumbrasilense on development and yielding of maize (Zea mays ssp. saccharata L.) under different cultivation conditions.** PolishJournalof Environmental Studies, 9:505- 509. 2000.

SZILAGYI-ZECCHIN, V.J.; MARRIEL, I.E.; SILVA, P.R.F., **Produtividade de milho inoculado com Azospirillum brasilense em diferentes doses de nitrogênio cultivado em campo no Brasil.** Comunicado Breve, SCAP – Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal. Vol. 40, p. 795-798, 2017.

ZEMRANY, H.; CORTET, J.; LUTZ, M.P.; CHABERT, A.; BAUDOIN, E.; HAURAT, J.; MAUGHAN, N.; FÉLIX, D.; DÉFAGO, G.; BALLY, R.; MOËNNE-LOCCOZ, Y., **Field survival of the phytostimulatorAzospirillumlipoferum crt1 and functional impact on maize crop, biodegradation of crop residues, and soil faunal indicators in a context of decreasing nitrogen fertilization.** Soil Biology & Biochemistry, 38:1712-1726. 2006.