



XXIX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas
XIII Reunião Brasileira sobre Micorrizas
XI Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo
VIII Reunião Brasileira de Biologia do Solo
Guarapari – ES, Brasil, 13 a 17 de setembro de 2010.
Centro de Convenções do SESC

TEOR RELATIVO DE CLOROFILA EM FOLHAS DE MILHO INOCULADO COM *Azospirillum brasiliense* SOB DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO E MANEJO COM BRAQUIÁRIA

Luiz Tadeu Jordão⁽¹⁾; Fábio Francisco de Lima⁽¹⁾; Rodrigo Sakurada Lima⁽¹⁾; Paulo Alexandre Esquaris Moretti⁽¹⁾; Hugo Vinícius Pereira⁽¹⁾; Antonio Saraiva Muniz⁽²⁾ & Maria Cristina Neves de Oliveira⁽³⁾

(1) Estudante de graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, CEP 87020-900, ltjordao@hotmail.com; (2) Professor Associado C, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, CEP 98020-900, asmuniz@uem.br; (3) Pesquisadora Nível A, EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa da Soja, Londrina, PR, CEP 86001-970, mcno@cnpsa.embrapa.br;

RESUMO: A cultura do milho safrinha, implantada no início dos anos 80, no Estado do Paraná, ganhou destaque no fim dessa década como mais uma alternativa econômica na entressafra. Com objetivo de avaliar o teor relativo de clorofila em folhas de milho em função de doses de nitrogênio, inoculação das sementes e diferentes manejos, foi realizado um experimento de campo em Nitossolo Vermelho distroférico, em Maringá (PR). Utilizaram-se três doses de nitrogênio (25, 50 e 75 kg ha⁻¹), inoculante contendo estirpes de *Azospirillum brasiliense* no tratamento das sementes de milho e dois manejos distintos de milho solteiro e consorciado com *Brachiaria ruziziensis*. Os tratamentos foram arrançados com fatorial nas parcelas (doses de nitrogênio x presença e ausência de *Azospirillum brasiliense*) e em faixa nas subparcelas o milho safrinha (milho solteiro e consorciado com braquiária), sob o delineamento blocos ao acaso, com quatro repetições dos blocos, totalizando 64 parcelas. O teor relativo de clorofila nas folhas aumentou linearmente com as doses de nitrogênio utilizadas. Da mesma forma, as médias de todos os tratamentos que receberam a inoculação das sementes com *Azospirillum brasiliense* foram maiores que os tratamentos não inoculados. Por outro lado, o manejo não influenciou no teor relativo de clorofila nas folhas.

Palavras-chave: milho safrinha, bactérias diazotróficas, Índice SPAD.

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays*) safrinha ocupa hoje cerca de

4,7 milhões de hectares plantados em todo Brasil, tendo como principais estados produtores Mato Grosso, Paraná, Mato Grosso do Sul, Goiás, São Paulo e Bahia. Estima-se que a safra de 2009/10 terá uma produção de 18 milhões de toneladas, cerca de 6,1% superior a safra anterior (CONAB, 2010).

No Estado do Paraná, desde meados da década de 80, o cultivo do milho de 2ª safra expandiu-se de forma exorbitante: passou de 200 mil hectares para 1,5 milhões de hectares plantados e produção de 1.740% maior que no início do período analisado (SEAB, 2009).

Nos últimos anos, intensificou-se a prática do cultivo consorciado de plantas produtoras de grãos com forrageiras tropicais em sistemas de plantio direto visando elevar a cobertura do solo através da palhada, ocorrendo a redução da degradação do solo e possibilitando incremento de produtividade (CECCON, 2010).

O nitrogênio é um dos nutrientes que é absorvido em maior quantidade pela cultura do milho. Sua importância está relacionada a funções exercidas no metabolismo das plantas como constituintes de proteínas, ácidos nucleicos e moléculas de clorofila, sendo um dos fatores de maior relevância para incremento de produção. Este nutriente influencia na expansão da área foliar e, conseqüentemente, atua na interceptação da radiação fotossintética ativa, bem como no uso eficiente e nos seus efeitos sobre a taxa fotossintética e a produção de biomassa (SINCLAIR E HORIE, 1989).

O medidor de clorofila desenvolvido por Minolta foi estudado por vários autores na elaboração de curvas que correlacionam valores da leitura SPAD (Soil Plant Analysis Development) e concentrações

de nutrientes na planta, principalmente nitrogênio. Argenta et al. (2003) obtiveram diferenças no índice SPAD em função dos híbridos, época de avaliação e local do cultivo de milho, comprovando o potencial de aplicação desse equipamento.

O incremento na produção das culturas está sendo otimizado por meio da utilização de biofertilizantes a base de micro-organismos procariotos, capazes de fixar no solo o nitrogênio atmosférico e disponibilizá-lo para as plantas.

Nos últimos 30 anos foram descobertas as potencialidades das bactérias diazotróficas microaeróbias, do gênero *Azospirillum*, fixadoras de nitrogênio atmosférico, quando em vida livre (BODDEY & DÖBEREINER, 1995) as quais, associadas à rizosfera das plantas, podem contribuir com a nutrição nitrogenada das mesmas. São muitas as evidências de que a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasiliense* seja responsável pelo aumento da taxa de acúmulo de matéria seca, principalmente na presença de elevadas dosagens de nitrogênio, indicando relação com o aumento da atividade das enzimas fotossintéticas e de assimilação de nitrogênio (DIDONET et al., 1996). Avaliaram-se os efeitos de doses de nitrogênio, inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasiliense* e diferentes manejos no teor relativo de clorofila em folhas de milho.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em condições de campo no município de Maringá – PR, na propriedade Sítio Santa Luzia, no ano agrícola de 2010. A área experimental possui 0,315 hectares situada na Latitude Sul 23°30'02" e Longitude Oeste 52°04'34" com altitude de 432 m e clima tropical chuvoso (Awa), segundo a classificação de Köppen . O solo foi classificado como Nitossolo Vermelho distroférico (EMBRAPA, 2006), cujas características químicas e granulométricas na profundidade de 0-20 cm eram: pH (CaCl₂ 0,01mol L⁻¹) 5,6; 3,97 cmol_c dm⁻³ de H⁺ + Al³⁺; 9,06 cmol_c dm⁻³ de Ca²⁺; 3,22 cmol_c dm⁻³ de Mg²⁺; 0,70 cmol_c dm⁻³ de K⁺; 12,98 cmol_c dm⁻³ de SB; 16,95 cmol_c dm⁻³ de CTC; 76,58% de saturação por bases; 3,9 mg dm⁻³ de P (Mehlich-1); 3,37 mg dm⁻³ de S; 14,83 g.dm⁻³ de C; 51,69 mg dm⁻³ de Fe; 9,30 mg dm⁻³ de Zn; 38,72 mg dm⁻³ de Cu; 442,20 mg dm⁻³ de Mn, 68%, 10% e 22%, respectivamente, argila, silte e areia.

A cultivar utilizada foi o híbrido simples DKB 330 YG de ciclo superprecoce, recomendado para diversas regiões do país, incluindo o Paraná. Para o cultivo do milho, adotaram-se dois sistemas: milho solteiro e consorciado com *Brachiaria ruziziensis*, ambos no preparo direto do solo.

Na semeadura, foram utilizadas três doses de nitrogênio (25, 50, 75 kg ha⁻¹) com testemunha, tendo com fonte Uréia com inibidor da urease (Super N). Os tratamentos também receberam 40 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 40 kg ha⁻¹ de K₂O na forma de Superfosfato Simples e Cloreto de Potássio, respectivamente.

No tratamento das sementes de milho, foram aplicados inseticidas do grupo neonicotinóide e metilcarbamato de oxima. Posteriormente, parte das sementes de milho foram inoculadas com um produto comercial contendo estirpes de *Azospirillum brasiliense*, na dosagem de 100 mL ha⁻¹.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso e os tratamentos em arranjo fatorial nas parcelas (doses de nitrogênio x presença ou ausência de *Azospirillum brasiliense*) e em faixas nas subparcelas o milho safrinha (milho solteiro e consorciado com braquiária) com quatro blocos totalizando 64 parcelas.

A semeadura do milho foi realizada no dia 02/03/2010 utilizando semeadora de tração tratorizada, com cinco linhas, no espaçamento de 0,80 m e com 4,7 plantas por metro linear. Para a semeadura da *Brachiaria ruziziensis*, o plantio foi simultâneo na entrelinha do milho, na mesma profundidade (3-4 cm), com densidade de 3,3 kg ha⁻¹ de sementes viáveis.

Durante o período do florescimento, foi avaliado o teor relativo de clorofila nas folhas. Foram escolhidas cinco plantas, na linha central das parcelas, por tratamento para efetuar a leitura com o clorofilômetro da marca Minolta, modelo 502. Em cada planta realizaram-se quatro leituras, sendo duas na parte abaxial e duas na parte adaxial, com a aferição das leituras a partir do terço médio da folha índice.

Para as análises estatísticas, utilizaram-se os softwares estatístico SANEST (Sistema de Análise Estatística) para DOS (ZONTA et al. 1982) e SAS (2001). Foram avaliadas todas as pressuposições da análise de variância (ANOVA). Nas comparações múltiplas de médias, foi utilizado teste de Tukey (p • 0,05) e para os fatores em que os níveis eram quantitativos aplicou-se a análise de regressão múltipla.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se diferença significativa dentre os tratamentos em relação ao teor de clorofila total no milho, medido com o clorofilômetro. As leituras médias do índice SPAD nas folhas aumentaram linearmente com as doses do fertilizante nitrogenado aplicado (Figura 1).

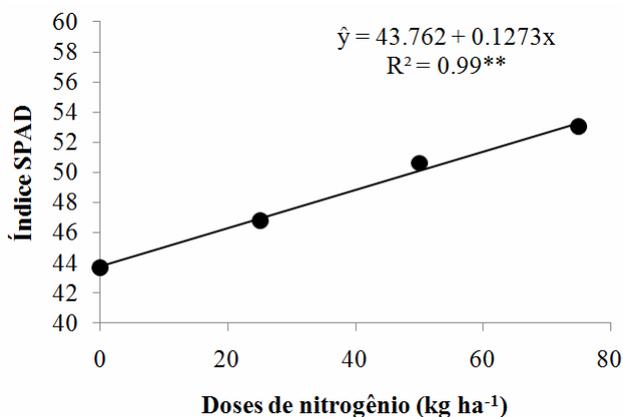


Figura 1. Leitura de índice SPAD em função de doses de nitrogênio aplicadas no solo.

** significativo ao nível de 1%.

Aumento da leitura do índice SPAD em função de doses de nitrogênio foi observado por Argenta (2004) e Waskom et al. (2006) para a cultura do milho, Neves et al. (2005) no algodão, e Silveira et al. (2003) no feijão.

A relação positiva entre o teor de nitrogênio e a leitura do índice SPAD na cultura do milho também foi obtida por Jakelaitis et al. (2005), com aumento no teor de nitrogênio de 25 kg ha⁻¹ para 75 kg ha⁻¹, o qual refletiu em um aumento na leitura SPAD, de 52,13 para 53,62 no período de florescimento.

A relação entre o teor de nitrogênio e a leitura do índice SPAD é atribuída ao fato de mais de 50% do nitrogênio total das folhas serem integrantes de compostos do cloroplasto e da clorofila das folhas (CHAPMAN & BARRETO, 1997). Folhas bem nutridas de nitrogênio tem maior capacidade de assimilar CO₂ e sintetizar carboidratos durante a fotossíntese (FERREIRA et al.1997), resultando em maior acúmulo de biomassa e rendimento de grãos.

Houve também efeito positivo na inoculação das sementes com *Azospirillum brasiliense*. A média da leitura do índice SPAD nos tratamentos com a presença da bactéria foi maior que a média dos tratamentos onde não houve inoculação, comprovando a eficiência desse micro-organismo em fixar nitrogênio.

Okon e Vanderleyden (1997) salientam que o ganho com a *Azospirillum spp.* vai além da fixação do nitrogênio atmosférico, mas também pelo aumento da superfície de absorção das raízes da planta e, conseqüentemente, no aumento do volume de nitrogênio do solo explorado.

Tabela 2. Médias do teor relativo de clorofila nas folhas em relação à inoculação.

Azospirillum	
Tratamentos	Médias (SPAD)
Ausência	46,73 a

Presença	50,34 b
CV (%)	3,344

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (p • 0,05).

Os maiores índices SPAD obtidos e que está relacionada ao uso da *Azospirillum brasiliense*, indica que há uma maior concentração de nitrogênio na folha e, portanto, segundo Sinclair e Horie (1989) uma maior taxa de assimilação de CO₂, o que conseqüentemente resultará em uma maior produção de biomassa.

Não houve diferença significativa a respeito dos diferentes manejos, independente das doses de fertilizante nitrogenado e da aplicação da bactéria nas sementes de milho.

Tabela 3. Médias do teor relativo de clorofila nas folhas em relação ao diferentes manejos.

Manejos	
Tratamentos	Médias (SPAD)
Milho Solteiro	48,55 a
Milho + Braquiária	48,52 a
CV (%)	2,393

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (p • 0,05).

São escassas na literatura informações sobre a utilização da bactéria *Azospirillum brasiliense* nos manejos de milho safrinha solteiro e consorciado com forrageiras tropicais.

CONCLUSÕES

O teor relativo de clorofila nas folhas de milho aumenta linearmente com as doses de nitrogênio aplicadas.

As médias de todos os tratamentos que receberam a inoculação das sementes com *Azospirillum brasiliense* são maiores que os tratamentos não inoculados.

O manejo de milho solteiro e consorciado com *Brachiaria ruziziensis* não influencia no teor relativo de clorofila nas folhas de milho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- BODDEY, R.M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent progress and perspectives for the future. Fertilizer Research, Oxford, v.42, p.241-250, 1995b.

- CECCON, G. Desafios no consórcio milho safrinha e braquiária. 2010. Artigo em Hipertexto. Disponível em:
<http://www.infobibos.com/Artigos/2010_1/consorcio/index.htm>. Acesso em: 30/6/2010.
- 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.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileira: Grãos, 6º Levantamento, Março 2010. Brasília: CONAB, 42 p, 2010.
- DIDONET, A. D.; RODRIGUES, O.; KENNER, M. H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasiliense*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.31, p. 645-651, 1996.
- DOBBELAERE et al. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Australian Journal of Plant Physiology*, Melbourne, v.28, p. 871-879, 2001.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos (Rio de Janeiro). Sistema Brasileiro de Classificação de solos. 2ªed. Rio de Janeiro, 2006, 306p.
- FERREIRA, A. C. B. Efeitos da adubação com N, Mo, Zn sobre a produção, qualidade dos grãos e concentração de nutrientes no milho. 1997. Tese (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.
- JAKELAITIS, A.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. R. Efeito do nitrogênio sobre o milho cultivado em consórcio com *Brachiaria brizantha*. *Acta Scientiarum, Agronomy*, Maringá, PR, v.27, nº1, p.39-46, Jan./March, 2005.
- NEVES, O. S. C. et al. Uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, nitrogênio, enxofre, ferro e manganês do algodoeiro herbáceo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 40, n. 5, p. 517-521, 2005.
- OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. *Applied and Environment Microbiology*, Washington, v.6, nº7, p. 366-370, 1997.
- SAS – Statistical Analysis System. SAS user's guide: statistics: version 8.2. 6ªed. Cary, 2001.
- SEAB - SECRETARIA DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. Análise da conjuntura agropecuária: Safra 2009/10, Outubro 2009. Curitiba: SEAB/DERAL, 30 p, 2009.
- SILVEIRA, P. M.; BRAZ, A. J. B. P.; DIDONET, A. D. Uso de clorofilômetro como indicador da necessidade de adubação nitrogenada em cobertura no feijoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 38, n. 9, p. 1083-1087, 2003.
- SINCLAIR, T. R.; HORIE, T. Leaf nitrogen, photosynthesis and crop radiation use efficiency: a review. *Crop Sci.*, Madison, v29, p.90-98, 1989.
- UHART, A. S.; ANDRADE, F. H. Nitrogen deficiency in maize: I – Effects on crop, growth, development, dry matter partitioning and kernel sets. *Crop Sci.*, Madison, v.35, p.1376-1383, 1995.
- ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A.; SILVEIRA JUNIOR, P. Sistema de Análise Estatística – SANEST , Registro no SEI nº066060, UFPEL, Pelotas, 1982, 63p.
- WASKOM, R. M. et al. Monitoring nitrogen status of corn with a portable chlorophyll meter. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, New York, v. 27, n. 3 p. 545-560, 1996.

