

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO - UEMA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CCA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA**  
**CURSO DE MESTRADO EM AGROECOLOGIA**

**ALEX SILVA DE OLIVEIRA**

**EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO E PRODUTIVIDADE DE MILHO**  
**EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE BIOFERTILIZANTE COM RESÍDUO**  
**DE PESCADO E *Azospirillum brasilense***

**São Luís – MA**

**2016**

ALEX SILVA DE OLIVEIRA  
ENGENHEIRO AGRÔNOMO

**EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO E PRODUTIVIDADE DE MILHO EM  
FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE BIOFERTILIZANTE COM RESÍDUO DE PESCADO  
E *Azospirillum brasilense***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia da Universidade Estadual do Maranhão, para obtenção do título de Mestre em Agroecologia.

Orientador. Prof. Dr. Altamiro Souza de Lima Ferraz Junior

**São Luís – MA  
2016**

Oliveira, Alex Silva de.

Eficiência de uso de nitrogênio e produtividade de milho em função da aplicação de biofertilizante com resíduo de pescado e *Azospirillum brasilense* / Alex Silva de Oliveira – São Luís, 2016.

54f.

Dissertação (Mestrado) – Curso de Agroecologia, Universidade Estadual do Maranhão, 2016.

Orientador: Prof. Dr. Altamiro Souza de Lima Ferraz Júnior

1. Agricultura orgânica. 2. Composto orgânico. 3. *Azospirillum brasilense*. 4. Fixação de nitrogênio.

I.Título

CDU: 633.15-184

**ALEX SILVA DE OLIVEIRA**

**EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO E PRODUTIVIDADE DE MILHO EM  
FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE BIOFERTILIZANTE COM RESÍDUO DE PESCADO  
*E Azospirillum brasilense***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia da Universidade Estadual do Maranhão, para obtenção do título de Mestre em Agroecologia.

**Aprovado em** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Altamiro Souza de Lima Ferraz Júnior – Orientador**  
Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

---

**Prof. Dr. Heder Braun**  
Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

---

**Pesquisador Dr. João Batista Zonta**  
EMBRAPA - Cocais

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder mais esse momento de vitória e alegria ao tão sonhado título de Mestre.

A toda minha família pelo carinho e apoio nessa grande jornada, em especial a minha querida Mãe, Maria Goretti Oliveira de Oliveira (in memoriam), que apesar da distância sei que continua a torcer e me fortalecer para as batalhas do dia a dia. Essa vitória é nossa mãezinha! E ao meu pai, irmão, madrinha, tios e primos pelo acolhimento nos momentos difíceis.

Quero agradecer a minha noiva Alline Sarah Costa pelo companheirismo, carinho e força nos momentos angustiantes de minha vida, além da grande contribuição na ajuda dos trabalhos realizados para essa conquista e por me proporcionar momentos felizes ao seu lado. Também não poderia deixar de agradecer a minha sogra pela paciência e disponibilidade nas correções gramaticais desse trabalho.

Agradeço a minha “parceira” de longa data, Fernanda Karollyne Sabóia do Nascimento, pelo apoio e pelas conversas agradáveis que proporcionaram momentos de descontração e também ao seu namorado Ely pela grande ajuda na execução dos trabalhos de campo e laboratório.

A todos os professores e colaboradores do curso de Agronomia, especialmente a professora Josiane Marlle Guissem pelos ensinamentos e motivação para o meu êxito profissional. Ainda gostaria de agradecer aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, particularmente ao meu orientador Altamiro Souza de Lima Ferraz Junior pela importante contribuição no desenvolvimento dessa pesquisa e ao professor Heder Braun pela constante disponibilidade e colaboração para a execução desse trabalho.

A todos os amigos e colegas que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho. Especialmente a Daniel Corrêa, Vinicius Macedo, Seu João, Dionísio, Marcelo Viana, Ronés Castro, Stéfanny Portela, Larissa e Gisele.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos. A FAPEMA pelo apoio financeiro na execução do projeto. A Universidade Estadual do Maranhão - UEMA e ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, pela oportunidade.

Obrigado a todos!

“A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido e não na vitória propriamente dita”.

Mahatma Gandhi

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Valores médios de produtividade (A) e número de grãos por espiga (B) em plantas de milho, em função da aplicação dos diferentes biofertilizantes, sem e com adição de bactéria *Azospirillum brasilense* .....38
- Figura 2** - Valores médios de nitrogênio remobilizado e nitrogênio absorvido pós-antese em plantas de milho em função da adição de bactéria no biofertilizante (A) e nitrogênio remobilizado em função da aplicação dos diferentes biofertilizantes em plantas de milho (B) .....40
- Figura 3** - Valores médios de eficiência do uso de nitrogênio em plantas de milho, em função da aplicação dos diferentes biofertilizantes, sem e com adição de bactéria *Azospirillum brasilense* .....41

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Composição química de macronutrientes e micronutrientes dos biofertilizantes e de seus componentes .....33
- Tabela 2** - Resumo da análise de variância dos parâmetros relacionados ao crescimento e produção em função da adição da bactéria nos biofertilizantes e aplicação dos diferentes tipos de biofertilizantes, mais tratamento adicional sem aplicação dos biofertilizantes.....36
- Tabela 3** - Resumo da análise de variância dos parâmetros relacionados ao uso de nitrogênio em função da adição da bactéria nos biofertilizantes e aplicação dos diferentes tipos de biofertilizantes, mais tratamento adicional sem aplicação de biofertilizante .....36

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	8
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	9
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	11
2.2 Resíduos de pescados.....	12
2.3 Biofertilizantes.....	13
2.4 <i>Azospirillum brasilense</i> e seu efeito como adubação nitrogenada .....	16
2.5 Importância e metabolismo do nitrogênio para a cultura do milho .....	18
REFERÊNCIAS .....	20
CAPÍTULO II.....	27
RESUMO .....	28
INTRODUÇÃO.....	29
MATERIAL E MÉTODOS.....	31
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	35
CONCLUSÃO.....	42
AGRADECIMENTOS .....	42
REFERÊNCIAS .....	42
ANEXO .....	46

**EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO E PRODUTIVIDADE DE MILHO EM  
FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE BIOFERTILIZANTE COM RESÍDUO DE PESCADO  
E *Azospirillum brasilense***

---

**CAPÍTULO I**

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O advento da revolução verde, o crescimento e o desenvolvimento da indústria química, focada na produção de agroquímicos, tem sido fator importante para aumentar a produtividade das culturas em todo mundo. Entretanto, o uso intensivo de agrotóxico e fertilizante químico tornou-se uma grande ameaça para o meio ambiente, em virtude de desequilíbrio causado nos sistemas agrícolas, como a poluição da água, do ar e do solo (SMITH; SILICIANO, 2015). Portanto, há necessidade de buscar modelos de agricultura sustentáveis e ao mesmo tempo que mantenha a alta produtividade das culturas.

Agricultura orgânica é uma alternativa viável para minimizar os impactos causados pela agricultura convencional, pois utiliza de modelos voltados para a agricultura sustentável, com utilização de esterco, compostagem e biofertilizantes em substituição ao uso de agrotóxicos e adubos químicos. Nesse modelo, o agricultor geralmente aproveita resíduos orgânicos para obter insumos de baixo custo e ao mesmo tempo capazes de proporcionar bons rendimentos aos cultivos.

Os biofertilizantes possuem compostos bioativos, resultantes da biodigestão de compostos orgânicos de origem animal e vegetal. Em seu conteúdo, são encontradas células vivas ou latentes de microrganismos de metabolismo aeróbico, anaeróbico (bactérias, leveduras, algas e fungos filamentosos), além de metabólitos e quelatos organo-minerais em solução aquosa (MEDEIROS; LOPES, 2006).

Todavia, não existe formulação padrão para o seu preparo, mas é geralmente obtido com a simples mistura de água e esterco bovino fresco (TIMM; GOMES; MORSELLI, 2004). Entretanto, os esterco de origem animal podem conter organismos patogênicos e antibióticos que afetam a qualidade do biofertilizante (RIVERA-CRUZ et al., 2008), por isso, diversas formulações vêm sendo testadas e utilizadas (MARROCOS et al., 2012).

O Brasil detém 8,5 mil quilômetros de costa terrestre, além de uma infinidade de rios e lagos. Devido a isso, o país possui alto potencial para o desenvolvimento da atividade pesqueira. Entretanto, o processo de beneficiamento de pescados gera grande quantidade de resíduos que não podem ser descartados no meio ambiente, em virtude da sua alta taxa de contaminação ambiental, tanto pela acumulação do lixo alimentar, quanto pela poluição ambiental no solo, na água e no ar atmosférico (ESPÍNDOLA FILHO, 1997). No entanto, dada a sua riqueza de elementos nutritivos, principalmente nitrogênio e fósforo, os resíduos de pescados podem ser utilizados na produção de insumos agrícolas. Segundo López-Mosquera et al. (2011), a compostagem com resíduos de pescados fornece um produto estável, que pode

servir como fertilizante em sistemas agrícolas sustentáveis. Esses resíduos também são empregados na formulação de biofertilizantes, principalmente para obter energia em forma de gás (SERRANO et al., 2013). Contudo, também são capazes de fornecer um composto líquido rico em nutrientes com altas concentrações de nitrogênio.

O nitrogênio é o nutriente mais requerido pelas plantas de milho, sendo fundamental para o seu crescimento e produção (DUVICK, 2005). Segundo Di Paolo e Rinaldi (2008), adubação nitrogenada é um dos principais fatores para obter alta produtividade na cultura do milho. Analisar fontes alternativas de nitrogênio e entender a sua absorção e assimilação pelas plantas de milho é de extrema importância para alcançar altas produtividades na cultura.

Bactéria diazotróficas, como *Azospirillum brasilense*, são capazes de fixar nitrogênio atmosférico que podem servir de aporte suplementar para o cultivo de gramíneas (FIBACH-PALD; BURDMAN; OKON, 2012). Segundo Ferreira et al. (2013), aplicação de *Azospirillum brasilense* em cultivos de milho é uma estratégia promissora e eficaz, por promover incremento no rendimento de grãos, em razão da maior disponibilidade de nitrogênio, que resulta numa menor dependência por fertilizantes nitrogenados.

Assim, o objetivo da pesquisa foi testar a hipótese que a adição de resíduos de pescados em substituição ao esterco bovino em biofertilizantes com adição de bactéria diazotróficas (*Azospirillum brasilense*) aumentam a produtividade e eficiência de uso do nitrogênio no cultivo de milho orgânico.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Agricultura orgânica e seus desafios**

O uso indiscriminado de produtos químicos na agricultura convencional, como fertilizantes e defensivos químicos acarretam sérios problemas de impacto ambiental e social (MACHADO; MACHADO FILHO, 2014). Os impactos ambientais são devido a maiores emissões de gases de efeito estufa, perda da biodiversidade e da qualidade da água e problemas com a erosão do solo (LONG; MILES; CARLISLE, 2016). Já os impactos sociais atingem principalmente a saúde humana, doenças como câncer e anomalias congênitas são recorrentes em áreas com predomínio da agricultura convencional (MACHADO; MACHADO FILHO, 2014). Esses impactos são minimizados na agricultura orgânica, fazendo os produtos orgânicos ganharem mais espaço no mercado mundial.

Nas últimas duas décadas, a agricultura orgânica cresceu rapidamente, por existir uma maior demanda por produtos saudáveis. A crescente procura por produtos orgânicos é consequência da conscientização da população em buscar produtos livres de agrotóxicos, que não agridem a sua saúde física e mental. Por isso, no Brasil, cresce a cada ano a quantidade de agricultores que adotam o processo de transição ecológica e que pretendem oferecer produtos de origem orgânica a esse mercado consumidor (BLANC, 2009).

Dentro da agricultura orgânica, o processo de transição ecológica é um dos fatores que mais ocasiona fracasso nos sistemas orgânicos, pois há uma necessidade de se entender os mecanismos bioecológicos dentro dos agroecossistemas (CARON et al., 2014), e muitas das vezes os agricultores não possuem acompanhamento técnico adequado. Além disso, o processo de certificação orgânica é muito oneroso o que também dificulta o acesso para os agricultores.

Diversas definições da agricultura orgânica são encontradas na literatura. No entanto, a maioria das definições da agricultura orgânica enfatizar uma abordagem holística, que combina uma produção de qualidade com práticas sustentáveis. Essas práticas geram impactos positivos na conservação de recursos, biodiversidade, assim como, no bem-estar animal (DINIS et al., 2015).

A agricultura orgânica tem como objetivo produzir alimentos mais sustentáveis através da aplicação de vários tipos de fertilizantes orgânicos, em substituição aos fertilizantes minerais, e a eliminação do uso de pesticidas (MÄDER et al., 2002). Os efeitos da agricultura orgânica, em longo prazo, geralmente resultam em maiores teores de matéria orgânica (GATTINGER et al., 2012), aumento da biomassa microbiana do solo e supressão de pragas

acima do solo (MÄDER et al., 2002; BIRKHOFFER et al., 2008). O aumento do teor de matéria orgânica no solo, provenientes das adubações orgânicas, possuem relação direta com a melhoria das condições químicas (MASSUNGA et al., 2016), físicas (CRITTENDEN et al., 2015) e biológicas do solo (FAGERIA, 2007).

Na agricultura orgânica, os resíduos agrícolas geralmente servem de aporte para a adubação dos solos. O uso de resíduos agrícolas em sistemas orgânicos diminui a dependência por insumos externos, logo, isso resulta numa economia para o agricultor, que obtém um menor custo de produção. Binta e Barbier (2015) verificaram em sistemas de agricultura orgânica uma economia de 50% no custo de produção quando comparado com sistemas convencionais, em consequência do uso de compostos orgânicos como fonte de nutrientes em substituição aos fertilizantes químicos.

Compostos orgânicos que geralmente são formulados “in situ” e esterco curtidos são as principais fontes de nutrientes utilizadas para adubar solos cultivados no manejo orgânico. Existem diversas maneiras de se produzir compostos orgânicos, como compostagem e biofertilizantes. Usualmente a formulação dos compostos orgânicos vai depender da oferta de resíduos oriundos das propriedades agrícolas. Contudo, é bastante comum agricultores orgânicos buscarem resíduos agrícolas “ex situ” para melhorar a eficácia na produção dos seus compostos orgânicos, principalmente dos biofertilizantes.

## **2.2 Resíduos de pescados**

O constante aumento populacional tem agravado o problema do gerenciamento dos resíduos sólidos gerados pelos habitantes, causados, principalmente, pelo volume de lixo produzido e pelo estilo de vida consumista, consequentemente esse aumento da produção de resíduos provoca impactos ambientais, como contaminação do ar, solo e água (OLIVEIRA et al., 2013). Apesar de a natureza ser capaz de degradar os resíduos orgânicos e reduzir os impactos provocados pela disposição inadequada, alguns desequilíbrios ecológicos têm ocorrido em locais onde a capacidade de assimilação natural é excedida. (SANTOS, 2005).

Segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura (BRASIL, 2011), o Brasil produziu em 2011 aproximadamente 1,4 milhões de toneladas de pescado, sendo que cerca de 45% dessa produção é oriunda da pesca artesanal. Contudo, há um problema referente a esta atividade que está na forma de destinação dos resíduos pesqueiros, já que estes possuem alta carga de

matéria orgânica, que se mal gerenciados podem afetar as características do solo e dos recursos hídricos.

Os resíduos gerados durante o beneficiamento do pescado (cabeça, vísceras, nadadeira, cauda, coluna vertebral, barbatana, escamas e restos de carne) podem representar mais de 50% da matéria-prima utilizada, variando conforme as espécies e o processamento (FELTES et al., 2010). Esta quantidade significativa de resíduos orgânicos, produzidos durante as diversas etapas da cadeia produtiva da pesca, é constituída de matéria-prima de alta qualidade, com altos teores de nitrogênio e fósforo, a qual pode ser utilizada para a produção de diversos subprodutos.

Há uma crescente utilização dos resíduos de pescados na produção de diferentes subprodutos, principalmente para a produção de ração animal (LOPES et al., 2015), de óleos para produção de biodiesel (BEHÇET, 2011) e na formulação de composto orgânico capaz de suprir a necessidade nutricional de plantas (LIAO et al., 1997; LÓPEZ-MOSQUERA et al., 2011). Ademais, os resíduos de pescados podem ser também destinados à digestão anaeróbica capaz de produzir biogás (REGUEIRO et al., 2012) e biofertilizante enriquecido em nutrientes, particularmente nitrogênio e fósforo (ESTEVEZ et al., 2014). Entretanto, a utilização de resíduos de pescado na formulação de biofertilizante foi pouco estudada.

### **2.3 Biofertilizantes**

A palavra biofertilizante significa bio = vida e fertilizante = adubo, ou seja, é um adubo com vida. Biofertilizantes são produtos derivados do processo de fermentação pela atividade dos microrganismos na decomposição da matéria orgânica. O processo de fermentação é bem simples e pode ser realizado a partir da digestão anaeróbica (sistema fechado) ou aeróbica (sistema aberto). Ao final do processo de digestão é desenvolvido um composto líquido, chamado de biofertilizante, rico em nutrientes essenciais para as plantas, e um composto humificado com menor quantidade de nutrientes, mas que pode ser utilizado como condicionador do solo, com atuação principalmente na propriedade física do solo (ALFA et al., 2014). Nos biofertilizantes são encontradas células vivas ou latentes de microrganismos de metabolismo aeróbico, anaeróbico e fermentação (bactérias, leveduras, algas e fungos filamentosos) e também metabólitos e quelatos organominerais em soluto aquoso (MEDEIROS; LOPES, 2006). De acordo com, Santos e Akiba (1996), os metabólitos originados dos biofertilizantes são compostos de proteínas, enzimas, antibióticos, vitaminas,

toxinas, fenóis, ésteres e ácidos, além de fitohormônios, produzidos e liberados pelos microrganismos.

Para a fabricação de biofertilizantes são adicionados leveduras, soro de leite ou o próprio leite, no intuito de se obter o aumento da população de microrganismos, sendo estes responsáveis pela transformação dos materiais orgânicos (RIVERA, 2007). Segundo Arévalo (2003), com o aumento da população microbiana heterotrófica, ocorrerá à liberação de nutrientes, enzimas, hormônios, ácidos orgânicos, aminoácidos, vitaminas. A presença de bactérias, bolores, leveduras e mesófilos permite o tratamento e conversão de compostos orgânicos em substâncias simples, como minerais, que quando fornecido à planta contribui para o melhor desenvolvimento fisiológico. Além disso, o rendimento do biofertilizante depende das matérias-primas utilizadas (esterco, resíduos vegetais), o tipo de fermentação e os microrganismos envolvidos (NGAMPIMOL; KUNATHIGAN, 2008).

A digestão anaeróbica é utilizada com maior frequência devido a maior eficiência do processo que resulta na produção de biofertilizante e gás para fornecimento de energia, sendo o fornecimento de gás uma vantagem quando comparado com a digestão aeróbica, pois nesse processo os gases seriam liberados a atmosfera provocando efeito estufa. A temperatura de 38 °C é ideal para o processo de fermentação anaeróbica, pois é a temperatura do rúmen dos animais que pastam, seja coelho, camelo, vaca ou veado (MEIRELLES et al., 1997). O processo de digestão anaeróbica é um processo sensível, podendo ser dividido em quatro fases:

1. Hidrólise enzimática - materiais orgânicos complexos são hidrolisados e convertidos em moléculas menores por meio da fermentação;
2. Acidogênese - moléculas menores resultantes da hidrólise são metabolizadas por bactérias, convertendo-se em diversos compostos simples;
3. Acetogênese - microrganismos acetogênicos convertem os produtos da acidogênese, resultando em hidrogênio, dióxido de carbono e acetato;
4. Metanogênese - processo das arqueas metanogênicas, convertem os substratos que produzem metano a partir dos acetatos, hidrogênio e dióxido de carbono.

O preparo de biofertilizante não segue uma formulação padrão, mas é geralmente obtido com a simples mistura de água e esterco fresco (TIMM; GOMES; MORSELLI, 2004). Segundo estes mesmos autores, também podem ser adicionados nos biofertilizantes outros componentes como, cinza de madeira, urina de vaca, plantas trituradas, frutas, esterco ou macro e micronutrientes concentrados para a produção de um produto mais enriquecido.

Santos (1992), Magro (1994) e Pesagro-Rio (1998) são detentores de formulações de biofertilizante que estão disponíveis para o produtor e também em produtos comerciais.

Dentro da agricultura orgânica, os biofertilizantes, são usados particularmente para suprir a demanda de nutrientes das plantas (GRIGATTI et al., 2011), promover o crescimento das plantas (MEDEIROS et al., 2011) e também aumentar as defesas das plantas contra patógenos e herbívoros (KUPPER et al., 2006).

Segundo Oliveira et al. (2014), os biofertilizantes possuem na sua composição, nutrientes mais facilmente disponíveis quando comparados a outros adubos orgânicos passíveis de promover melhoria das propriedades químicas do solo podendo elevar os teores de P, Ca e Mg. Méndez e Viteri (2007) observaram em seus estudos que aplicações de biofertilizante é uma opção importante para a sustentabilidade da agricultura, por proporcionar efeitos benéficos em longo prazo sobre os aspectos físicos, químicos e biológicos dos solos. Diversos autores relatam em seus resultados que os biofertilizantes proporcionam melhoria na produtividade e crescimento de plantas. De acordo com Simonetti, Marques e Costa (2016), a maior dose de biofertilizante avaliada ( $200 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ ) aumentou a produtividade de matéria seca, matéria verde e teor de proteína do capim-mombaça. A mesma tendência foi indicada por Santos et al. (2011) estudando doses de biofertilizantes com dejetos de suínos sob a produtividade das plantas de milho.

Biofertilizantes também podem ter a finalidade de combater patógenos e herbívoros de plantas, principalmente em cultivos orgânicos. Segundo Bettiol e Standnik, (2001); Santos, (2001), o controle de patógenos pelo biofertilizante é resultante ao efeito fungistático e bacteriostático devido à presença principalmente da bactéria *Bacillus subtilis*, que sintetiza substâncias antibióticas, aliado aos diversos nutrientes, vitaminas e aminoácidos. Já a ação dos biofertilizantes sobre os insetos é ocasionada pela natureza repelente, devido a substâncias voláteis, como álcoois, fenóis e ésteres, equilíbrio nutricional das plantas e/ou efeito mecânico por adesividade e desidratação (SANTOS, 2001). Aplicações de biofertilizantes comerciais foram eficientes no controle preventivo da mancha bacteriana, reduzindo a severidade da doença (RODRIGUES; BUENO; TEBALDI, 2016). Medeiros (2002) verificou que o biofertilizante a base de conteúdo de rúmen bovino e composto orgânico Microgeo reduziram a fecundidade, período de oviposição e longevidade de fêmeas do ácaro-da-leprose dos citros, *Brevipalpus phoenicis*, quando pulverizado em diferentes concentrações.

Os biofertilizantes podem ser aplicados em diversas formas e concentrações na agricultura orgânica. A biofertilirrigação é uma prática bastante empregada por agricultores orgânicos (GROSS et al., 2008). É uma técnica de aplicação simultânea de nutriente e água,

através de um sistema de irrigação, resultando em um modelo mais eficiente e econômico de aplicar biofertilizante nas plantas, principalmente em regiões de climas árido e semi-árido, que é recomendado aplicar fertilizantes em menor quantidade por vez, mas com maior frequência.

Os biofertilizantes aplicados diretamente no solo têm mostrado um efeito benéfico na composição mineral e na redução da acidez, isto é, aumenta o pH. A matéria orgânica aplicada no solo forma complexos orgânicos estáveis, interferindo no processo de acidificação, provocada pela lavagem das bases essenciais à planta (JAYALATH et al., 2016). Deste modo, ela retém os componentes dos adubos e o dos calcários, que ficam à disposição das plantas, ao mesmo tempo em que evita o carregamento e a perda dos nutrientes pelas águas de chuvas e das irrigações pesadas. Galbiatti et al. (1996) reportaram enriquecimento químico do solo na capacidade de retenção de bases promovido pela aplicação do biofertilizante. Para os autores, esse aspecto exerce relevância, visto que a obtenção de elevado rendimento com qualidade de frutos está diretamente associada a uma nutrição balanceada da cultura.

A aplicação via foliar é bastante usada por possuir grande potencial no controle de pragas e doenças, além de favorecer o equilíbrio nutricional da planta. Com base em trabalhos desenvolvidos pode-se considerar que o uso mais comum do biofertilizante é na pulverização sobre as plantas, sendo relatado por diversos autores Oliveira et al. (2014), Barros et al. (2013), Duarte Júnior e Coelho (2008), Araújo et al. (2007) o seu uso como adubo foliar. Contudo, para que se possa usar o biofertilizante como adubo foliar com bons resultados, é necessário um bom conhecimento dos princípios que regem a absorção e o movimento dos nutrientes nas plantas, bem como os efeitos da sua falta ou excesso, e as regras práticas da sua aplicação. Deve-se ressaltar que os biofertilizantes são constituídos por diversos nutrientes, não sendo dessa maneira um adubo foliar que contenha apenas um nutriente.

#### **2.4 *Azospirillum brasilense* e seu efeito como adubação nitrogenada**

Em ecossistemas naturais, as plantas representam um enorme nicho ecológico, em que uma grande diversidade de microrganismos é encontrada. A população microbiana está sempre em interação com a planta na superfície das raízes, caules e folhas ou colonizando seus tecidos internos (ROSENBLUETH; MARTÍNEZ-ROMERO, 2006), sendo que alguns destes microrganismos são prejudiciais e outros são benéficos para as plantas.

Em busca por produtos alternativos que substituem parcialmente ou totalmente adubações químicas, destaca-se a utilização de rizobactérias promotoras de crescimento de planta. Estes são microrganismos que vivem em associação simbiótica na rizosfera da planta e tem efeito de promover o crescimento e produção das culturas (DÍAZ-ZORITA; FERNÁNDEZ-CANIGIA, 2009).

Dentre essas bactérias a espécie *Azospirillum brasilense* é destaque pelo seu grande potencial que os resultados de estudos demonstram (DOBBELAERE et al., 2002; FERREIRA et al., 2013). Essa bactéria tem afinidade em se associar, principalmente com plantas da família das Poaceae, com destaque para as culturas de milho, trigo e arroz. No entanto, a associação entre a bactéria e as plantas depende de muitos fatores que vão além da afinidade entre ambos, tais como tecidos das plantas, tipo de solo e interação com outros microrganismos, que podem afetar negativamente a estrutura e composição da bactéria (ARAÚJO et al., 2001; MOCALI et al., 2003).

O modo de ação da bactéria *Azospirillum brasilense* quando associada com gramíneas, dispões de liberação de fitohormônios, fixação de nitrogênio atmosférico, redução do nitrato e aumento do poder de absorção de minerais pelas plantas (JAMES, 2000). Na literatura existem vários trabalhos confirmando que *Azospirillum* produz fitohormônios que estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas. De acordo com Spaepen, Vanderleyden e Okon (2009) a bactéria *Azospirillum brasilenses* é capaz de produzir fitohormônios (auxina, citocinina e giberelinas) que podem induzir o crescimento radicular e consequentemente melhorar absorção de água e nutrientes pelas plantas. Casanovas; Barrassi e Sueldo (2002) concluíram que as plantas de milho inoculadas com *Azospirillum brasilenses* com estresse hídrico durante o estágio de antese apresentaram melhor crescimento devido ao maior poder de absorção das raízes, o que aumentou a produção de grãos e da qualidade dos grãos. Resultados semelhantes foram descritos para o trigo plantas com estresse hídrico durante o mesmo estágio (CREUS; SUELDO; BARASSI, 2004).

O processo de fixação de nitrogênio atmosférico pela bactéria *Azospirillum brasilense* em associação com gramíneas, é resultado do complexo da dinitrogenase (enzima que quebra a forte ligação N<sub>2</sub>), que resulta na conversão do nitrogênio atmosférico em amônia. Entretanto, apenas parte desse nitrogênio fixado é disponível para planta, que faz necessário o complemento com adubação nitrogenada (ZHANG, 1997). Segundo Pedraza et al. (2009) a inoculação de *Azospirillum brasilense* em semente de arroz juntamente com adubação nitrogenada de cobertura (50 kg N ha<sup>-1</sup>) aumentou o conteúdo de nitrogênio das folhas de arroz e a produtividade da cultura, concluindo que a bactéria consegue suprir apenas

parcialmente a demanda da planta por nitrogênio. Já Hungria et al. (2010), verificaram que a inoculação da bactéria aumentou em 30% a produtividade de milho quando comparou com as plantas que não foram inoculadas, entretanto, em todos os tratamentos, os autores utilizaram baixa aplicação de nitrogênio alcançando nos resultados com plantas inoculadas produtividade de milho considerada média para o país de estudo.

## **2.5 Importância e metabolismo do nitrogênio para a cultura do milho**

O nitrogênio é o nutriente mais exigido pelas plantas de milho, por isso é o nutriente mais aplicado em quantidade no solo (HU et al., 2013). Geralmente, utilizam-se altas dosagens de nitrogênio para alcançar altas produtividades na cultura do milho. Contudo, o excesso de nitrogênio aplicado no solo acarreta sérios problemas ambientais. Problemas como, eutrofização de rios e lagos, lixiviação de nitrato para os lençóis freáticos, emissões de  $\text{NO}_2$  e contaminações de alimentos são perturbações provocadas pelo excesso da adubação nitrogenada no solo. Já sua escassez limita o crescimento e consequentemente a produtividade da cultura. Estima-se que 50-70% do nitrogênio fornecido ao solo é perdido no ambiente (HODGG; ROBINSON; FITTER, 2000). Portanto, é necessário o entendimento do processo de absorção e assimilação do nitrogênio para aumentar a eficiência do uso de nitrogênio pelas plantas evitando perda desse nutriente.

De acordo com Malavolta (1981), a absorção de nitrogênio em milho, em relação à percentagem total, oscila em torno de 8% no 1º mês, 50% no 2º mês, 28% no 3º mês e 14% no 4º mês. O nitrogênio presente nos solos é absorvido pelo sistema radicular das plantas, particularmente, na forma inorgânica como amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) ou nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). O processo de absorção desses nutrientes é controlado por dois carregadores que atuam na membrana plasmática, um de baixa afinidade que opera em altas concentrações de nitrogênio e outro de alta afinidade que atua em baixa concentração de nitrogênio (LIU; HUANG; TSAY, 1999; WILLIAMS; MILLER, 2001).

No processo de assimilação do nitrogênio a forma inorgânica oxidada ( $\text{NO}_3^-$ ) deve ser reduzida a amônio para ser incorporado a compostos orgânicos. Inicialmente o nitrato é reduzido a nitrito, sendo esse processo catalisado no citosol pela enzima nitrato redutase. Em seguida, o nitrito é translocado para o cloroplasto onde é reduzido a amônio pela enzima nitrito redutase (MAYER; STITT, 2001). O nitrato absorvido pode ser imediatamente reduzido a amônio ou ser acumulado no vacúolo para posterior utilização, diferentemente do

amônio, cujo acúmulo é tóxico para as plantas, devendo ser imediatamente incorporado em um esqueleto de carbono.

O amônio absorvido pela raiz, ou produzido pela redução do nitrato ou da fotorrespiração, é assimilado em glutamina ou glutamato através das enzimas glutamina sintetase (GS) ou glutamato sintetase (GOGAT), que irão se ligar ao esqueleto de carbono, formando aminoácidos e, posteriormente, proteínas.

Segundo Malagoli et al. (2005), Diaz et al. (2008) e Lemaitre et al. (2008), o nitrogênio em plantas de milho pode ser remobilizado de folhas senescentes para folhas novas na fase vegetativa, bem como a partir de folhas senescentes a sementes na fase reprodutiva. Salon et al. (2001), verificaram que o início do enchimento de grãos é uma fase crítica de disponibilidade de nitrogênio na planta, pois a absorção de nitrogênio diminui durante o estágio de maturação e enchimento de grãos. Absorção e assimilação do nitrogênio durante o período de enchimento de grãos é geralmente insuficiente pela alta demanda das sementes por nitrogênio, e a remobilização que ocorrem sucessivamente nos diferentes órgãos da planta, são necessários para disponibilizar o nitrogênio às sementes (MASCLAUX-DAUBRESSE, 2009).

## REFERÊNCIAS

- ALFA, M. I.; ADIE, D. B.; IGBORO, S. B.; ORANUSI, U. S.; DAHUNSI, S. O.; AKALI, D. M. Assessment of biofertilizer quality and health implications of anaerobic digestion effluent of cow dung and chicken droppings. **Renewable Energy**, v. 63, p. 681-686, 2014.
- ARAÚJO, W. L.; MACCHERONI JUNIOR, W.; AGUILAR-VILDOSO, C. I.; BARROSO, P. A. V.; SARIDAKIS, H. O.; AZEVEDO, J. L. Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 229-236, 2001.
- ARAÚJO, E. N. de.; OLINVEIRA, A. P. de.; CALVACANTE, L. F.; PEREIRA, W. E.; BRITO, N. M. de.; NEVES, C. M. L. de.; SILVA, E. E. de. Produção do pimentão adubado com esterco bovino e biofertilizante. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 5, p. 466-470, 2007.
- ARÉVALO, R. **El uso de la biofertilizantes para la descomposicion de residuos sólidos domésticos y la producción de bioabonos de calidad**. 2003. 78p. Monografía - Faculdade de Ciências Naturais e Matemática, Universidade de Nariño, Pasto, Colômbia, 2003.
- BARROS, C. M. B.; MÜLLER, M. M. L.; BOTELHO, M. L.; VICENSI, M.; NASCIMENTO, R. do. Substratos com compostos de adubos verdes e biofertilizantes via foliar na formação de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 2575-2588, 2013.
- BEHÇET, R. Performance and emission study of waste anchovy fish biodiesel in a diesel engine. **Fuel Processing Technology**, v. 92, n. 6, p. 1187-1194, 2011.
- BETTIOL, W.; STADNIK, M. J. Controle alternativo de oídios. In: STADNIK, M. J. **Oídios**, Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. 2001. 27 p.
- BIRKHOFFER, K.; BEZEMER, T. M.; BLOEM, J.; BONKOWSKI, M.; CHRISTENSEN, S.; DUBOIS, D.; EKELUND, F.; FLIEßBACH, A.; GUNST, L.; HEDLUND, K.; MÄDER, P.; MIKOLA, J.; ROBIN, C.; SETÄLÄ, H.; TATIN-FROUX, F.; VAN DER PUTTEN, W. H.; SCHEU, S. Long-term organic farming fosters below and aboveground biota: Implications for soil quality, biological control and productivity. **Soil Biology Biochemistry**, v. 40, p. 2297-2308, 2008.
- BINTA, A.; BARBIER, B. Economic and Environmental Performances of Organic Farming System Compared to Conventional Farming System: A Case Farm Model to Simulate the Horticultural Sector of the Niayes Region in Senegal. **Journal of Horticulture**, v. 29, p. 17-19, 2015.
- BLANC, J. Family farmers and major retail chains in the Brazilian organic sector: assessing new development pathways. A case study in a peri-urban district of São Paulo. **Journal of Rural Studies**, v. 25.3, p. 322-332, 2009.
- BRASIL, Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**. 1 ed. Brasília, 2011. 60 p.

CARON, P.; BIE' NABE, E.; HAINZELIN, E. Making transition towards ecological intensification of agriculture a reality: the gaps in and the role of scientific knowledge. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 8, p. 44-52, 2014.

CASANOVAS, E. M.; BARASSI, C. A.; SUELDO, R. J. *Azospirillum* inoculation mitigates water stress effects in maize seedlings. **Cereal Research Communications**, v. 30, p. 343-349, 2002.

CREUS, C. M.; SUELDO, R. J.; BARASSI, C. A. Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. **Canadian Journal of Botany**, v. 82, p. 273-281, 2004.

CRITTENDEN, S. J.; POOT, N.; HEINEN, M.; VAN BALEN, D. J. M.; PULLEMAN, M. M. Soil physical quality in contrasting tillage systems in organic and conventional farming. **Soil & Tillage Research**, v. 154, p. 136-144, 2015.

DIAZ, C.; LEMAÍTRE, T.; CHRIST, C.; AZZOPARDI, M.; KATO, Y.; MOROT-GAUDRY, J-F.; LE DILY, F.; MASCLAUX-DAUBRESSE, C. Nitrogen recycling and remobilization are differentially controlled by leaf senescence and development stage in *Arabidopsis* under low nitrogen nutrition. **Plant Physiology**, v. 147, p. 1437-1449, 2008.

DÍAZ-ZORITA, M.; FERNÁNDEZ-CANIGIA, M. V. Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum brasilense* on dryland wheat productivity. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, p. 3-11, 2009.

DINIS, I.; ORTOLANI, L.; BOCCI, R.; BRITES, C. Organic agriculture values and practices in Portugal and Italy. **Agricultural Systems**, v. 136, p. 39-45, 2015.

DI PAOLO, E.; RINALDI, M. Yield response of corn to irrigation and nitrogen fertilization in a Mediterranean environment. **Field Crops Research**, v. 105, p. 202-210, 2008.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and fertility of soils**, v. 36, p. 284-297, 2002.

DUARTE JÚNIOR, J. B.; COELHO, F. C. Aplicação foliar de Agrobio e molibdênio em dois cultivares de feijão comum. **Revista Ceres**, v. 55, p. 41-48, 2008.

DUVICK, D. N. The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.). **Advances in Agronomy**, v. 86, p. 83-145, 2005.

ESPINDOLA FILHO, A. **Aproveitamento de resíduos sólidos de pescado como fertilizante marinho**. 1997. 98 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências, Universidade de Marçenzie, São Paulo, 1997.

ESTEVEZ, M. M.; SAPCI, Z.; LINJORDET, R.; MORKEN, J. Incorporation of fish by-product into the semi-continuous anaerobic co-digestion of pre-treated lignocellulose and cow manure, with recovery of digested nutrients. **Renewable Energy**, v. 66, p. 550-558, 2014.

FAGERIA, N. K. Soil fertility and plant nutrition research under field conditions: basic principles and methodology. **Journal of Plant Nutrition**, v. 30, p. 203–223, 2007.

FELTES, M. M. C.; CORREIA, J. F. G.; BEIRÃO, L. H.; BLOCK, J. M.; NINOW, J. L.; SPILLER, V. R. Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.6, p. 669-677, 2010.

FERREIRA, A. S.; PIRES, R. R.; RABELO, P. G.; OLIVEIRA, R. C.; LUZ, J. M. Q.; BRITO, C. H. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. **Applied Soil Ecology**, v. 72, p. 103-108, 2013.

FIBACH-PALDI, S.; BURDMAN, S.; OKON, Y. Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 326, p. 99-108, 2012.

GALBIATTI, J. A.; GARCIA, A.; SILVA, M. L. D.; MASTROCOLA, M. A.; CALDEIRA, D. S. A. Efeitos de diferentes doses e épocas de aplicação de efluente de biodigestor e da adubação mineral em feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) Submetido a duas lâminas de água por meio de irrigação por sulco. **Científica Jaboticabal**, v. 24, n. 1, p. 63-74, 1996.

GATTINGER, A.; MULLER, A.; HAENI, M.; SKINNER, C.; FLIESSBACH, A.; BUCHMANN, N.; MÄDER, P.; STOLZE, M.; SMITH, P.; SCIALABBA, N.E.H.; NIGGLI, U. Enhanced top soil carbon stocks under organic farming. **Proceeding of the National Academy of Sciences**, v. 109, p. 18226-18231, 2012.

GRIGATTI, M.; DI GIROLAMO, G.; CHINCARINI, R.; CIAVATTA, C.; BARBANTI, L. Potential nitrogen mineralization, plant utilization efficiency and soil CO<sub>2</sub> emissions following the addition of anaerobic digested slurries. **Biomass & Bioenergy**, v. 35, n. 11, p. 4619–4629, 2011.

GROSS, A.; ARUSI, R.; FINE, B.; NEJIDAT, A. Assessment of extraction methods with fowl manure for the production of liquid organic fertilizers, **Bioresource Technology**, v. 99, p. 327-334, 2008.

HODGG, A.; ROBINSON, D.; FITTER, A. Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen? *Trends in Plant Science*, v. 5, p. 304-308, 2000.

HU, H.; NING, T.; LI, Z.; HAN, H.; ZHANG, Z.; QIN, S.; ZHENG, Y. Coupling effects of urea types and subsoiling on nitrogen-water use and yield of different varieties of maize in northern China. **Field Crop Research**, v. 142, p. 85-94, 2013.

HUNGRIA, M.; CAMPOS, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant Soil**, v. 331, n. 1, p. 413–425, 2010.

JAYALATH, N.; MOSLEY, L. M.; FITZPATRICK, R. W.; MARSCHNER, P. Addition of organic matter influences pH changes in reduced and oxidised acid sulfate soils. **Geoderma**, v. 262, p. 125-132, 2016.

JAMES, E. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Research**, v. 65, p. 197-209, 2000.

KUPPER, K. C.; BETTIOL, W.; GOES, A. de.; SOUZA, P. S. de.; BELLOTTE, J. A. M. Biofertilizer for control of *Guignardia citricarpa*, the causal agent of citrus black spot. **Crop Protection**, v. 25, p. 569-573, 2006.

LEMAÍTRE, T.; GAUFICHON, L.; BOUTET-MERCEY, S.; CHRIST, A.; MASCLAUX-DAUBRESSE, C. Enzymatic and metabolic diagnostic of nitrogen deficiency in *Arabidopsis thaliana* Wassileskija accession. **Plant and Cell Physiology**, v. 49, p. 1056-1065, 2008.

LIAO, P. H.; JONES, L.; LAU, A. K.; WALKEMEYER, S.; EGAN, B.; HOLBEK, N. Composting of fish wastes in a full-scale invessel system. **Bioresource Technology**, v. 59, p. 163-168, 1997.

LIU, K. H.; HUANG, C. Y.; TSAY, Y. F. CHL1 is a dual-affinity nitrate transporter of *Arabidopsis* involved in multiple phases of nitrate uptake. **The Plant Cell**, v. 11, p.865-874, 1999.

LONG, M. S. de.; MILES, A.; CARLISLE, L. Investing in the transition to sustainable agriculture. **Environmental Science & Policy**, v. 55, p. 266-273, 2016.

LOPES, C.; ANTELO, L. T.; FRANCO-URÍA, A.; ALONSO, A. A.; PÉREZ-MARTÍN, R. Valorisation of fish by-products against waste management treatments – Comparison of environmental impacts. **Waste Management**, v. 46, p. 103-112, 2015.

LÓPEZ-MOSQUERA, M. E.; FERNÁNDEZ-LEMA, E.; VILLARES, R.; BLANCO, C. Composting fish waste and seaweed to produce a fertilizer for use in organic agriculture. **Procedia Environmental Sciences**, v. 9, p. 113-117, 2011.

MACHADO, L. C. P.; MACHADO FILHO, L. C. P. **A dialética da agroecologia: contribuição para um mundo com alimentos sem veneno**. São Paulo: Expressão Popular, 2014. 360p.

MÄDER, P.; FLIEBBACH, A.; DUBOIS, D.; GUNST, L.; FRIED, P.; NIGGLI, U. Soil fertility and biodiversity in organic farming. **Science**, v. 296, p. 1694-1697, 2002.

MAGRO, D. **Supermagro: a receita completa**. Boletim de Associação de Agricultura Orgânica. 1994. 4p.

MALAGOLI, P.; LAINE, P.; LE DEUNFF, E.; ROSSATO, L.; NEY, B.; OURRY, A. Modeling nitrogen uptake in oilseed rape cv Capitol during a growth cycle using influx kinetics of root nitrate transport systems and field experimental data. **Plant Physiology**, v. 134, p. 388-400, 2005.

MALAVOLTA, E. **Nutrição mineral e adubação do milho**. 2.ed. Divulgação técnica Ultrafértil, 1981. 4p.

MARROCOS, S. de T. P.; NOVO JUNIOR, J.; GRANGEIRO, L. C.; AMBROSIO, M. M. de Q.; CUNHA, A. P. A. da. Composição química e microbiológica de biofertilizantes em diferentes tempos de decomposição. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 4, p. 34-43, 2012.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; DANIEL-VEDELE, F.; DECHORGNAT, J.; CHARDON, F.; GAUFICHON, L.; SUZUKI, A. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of Botany**, v. 105, p. 1141-1157, 2009.

MASUNGAA, R. H.; UZOKWEB, V. N.; MLAYA, P. D.; ODEHC, I.; SINGHD, A.; BUCHANE, D.; DE NEVEE, S. Nitrogen mineralization dynamics of different valuable organic amendments commonly used in agriculture. **Applied Soil Ecology**, v. 101, p. 185-193, 2016.

MAYER, C.; STITT, M. Nitrate reductase and signalling. In: LEA, P. J.; MOROT-GAUDRY, J. F. **Plant nitrogen**. New York: Springer; p. 37-59, 2001.

MEDEIROS, M. B. **Ação de biofertilizantes líquidos sobre a bioecologia do ácaro *Brevipalpus phoenicis***. 2002. 110p. Tese (Doutorado em Ciência, Área de concentração: Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

MEDEIROS, M. B.; LOPES, J. S. Biofertilizantes líquidos e sustentabilidade agrícola. **Bahia Agrícola**, v. 7, p. 24-26, 2006.

MEDEIROS, R. F.; CALVACANTE, L. F.; MESQUITA, F. O.; RODRIGUES, R. M.; SOUSA, G. G.; DINIZ, A. A. Crescimento inicial do tomateiro-cereja sob irrigação com águas salinas em solo com biofertilizantes bovino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 5, p. 505-511, 2011.

MEIRELLES, L.; BRAGAGIOLI NETO, A.; MEIRELLE, A.L.; GONÇALVES, A. GUAZZELLI, M.J.; VOLPATO, C. BELLÉ, N. **Biofertilizantes enriquecidos: caminho da nutrição e proteção das plantas**. Ipê: Centro de Agricultura Ecológica, 1997. 12p.

MÉNDEZ, M.; VITERI, S. Alternativas de la biofertilización para la producción sostenible de cebolla de bulbo (*Allium cepa*) Boyacá. **Agronomia Colombiana**, v. 25, p. 168-175, 2007.

MOCALI, S.; BERTELLI, E.; CELLI, F. D.; MENGONI, A.; SFALANGA, A.; VILANI, F.; CACIOTTI, A.; TEGLI, S.; SURICO, G.; FANI, R. Fluctuation of bacteria isolated from elm tissues during different seasons and from different plant organs. **Research in Microbiology**, v. 154, p. 105-114, 2003.

NGAMPIMOL, H.; KUNATHIGAN, V. The study of liquid biofertilizers shelf life from plant waste. **AU Journal Technology**, v. 4, p. 204-208, 2008.

OLIVEIRA, A. L. T.; SALES, R. O.; FREITAS, J. B. S.; LOPES, J. E. L. Alternativa sustentável para descarte de resíduos de pescado em Fortaleza. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 7, p. 1-8, 2013.

OLIVEIRA, A. P. de.; SILVA, O. P. da.; BANDEIRA, N. V. D. S.; SILVA, D. F. da.; SILVA, J. A.; PINHEIRO, S. M. Rendimento de maxixe em solo arenoso em função de doses de esterco bovino e biofertilizante. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 18, n. 11, p. 1130-1135, 2014.

OLIVEIRA J. R. de.; GOMES, R. L. F.; ARAÚJO, A. S. F.; MARINI, F. S.; LOPES, J. B.; ARAÚJO, R. M. Estado nutricional e produção da pimenteira com uso de biofertilizantes líquidos. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, v.18, n.12, p.1241-1246, 2014.

PEDRAZA, R. P.; BELLONE, C. H.; BELLONE, S. C. de.; BOA SORTE, P. M. F.; TEIXEIRA, K. R. dos. S. *Azospirillum* inoculation and nitrogen fertilization effect on grain yield and on the diversity of endophytic bacteria in the phyllosphere of rice rainfed crop. **European journal of soil biology**, v. 45, p. 36-43, 2009.

PESAGRO-RIO. **Produção e pesquisa do Agrobio e de caldas alternativas para o controle de pragas e doenças**. Niterói: PESAGRO-RIO. 1998. 23p.

REGUEIRO, L.; CARBALLA, M.; ÁLVAREZ, J. A.; LEMA, J. M. Enhanced methane production from pig manure anaerobic digestion using fish and biodiesel wastes as co-substrates. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 507-513, 2012.

RIVERA, J. R. ABC de la Agricultura Orgánica y Panes de Piedra: **Biofertilizantes preparados y fermentados a base de mierda de vaca**. Cali, 2007. 108p.

RIVERA-CRUZ, M. del C.; NARCÍA, A. T.; BALLONA, G. C.; KOHLER, J.; CARAVACA, F.; ROLDÁN, A. Poultry manure and banana waste are effective biofertilizer carriers for promoting plant growth and soil sustainability in banana crops. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 3092-3095, 2008.

ROSENBLUETH, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v. 19, p. 827-837, 2006.

RODRIGUES, V. W. B.; BUENO, T. V.; TEBALDI, N. D. Biofertilizantes no controle da mancha bacteriana (*Xanthomonas* spp.) do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 1, p. 94-96, 2016.

SALON, C.; MUNIER-JOLAIN, N. G.; DUC, G.; VOISIN, A. S.; GRANDGIRARD, D.; LARMURE, D.; EMERY, R. J. N.; NEY, B. Grain legume seed filling in relation to nitrogen acquisition: a review and prospects with particular reference to pea. **Agronomie**, v. 21, p. 539-552, 2001.

SANTOS, A. C. V. A ação múltipla do biofertilizante líquido como fertilizante e fitoprotetor em lavouras comerciais. In: HEIN, M. (org.) **Resumos do 1º Encontro de Processos de Proteção de Plantas: controle ecológico de pragas e doenças**. Botucatu, Agroecológica. 2001. 5p.

SANTOS, A. C. V.; AKIBA, F. **Biofertilizantes líquidos: uso correto na agricultura alternativa**. Seropédia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1996. 35p.

SANTOS, A. C. V. **Biofertilizante líquido, o defensivo da natureza**. Niterói: EMATER, 1992. 16p.

SANTOS, C. **Prevenção a poluição industrial: Identificação de oportunidades, análise dos benefícios e barreiras**. 2005. 304 p. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

SANTOS, M. R. dos.; SEDIYAMA, M. A. N.; SANTOS, I. C. dos.; SALGADO, L. T.; VIDIGAL, S. M. Produção de milho-verde em resposta ao efeito residual da adubação orgânica do quiabeiro em cultivo subsequente. **Revista Ceres**, v. 58, n. 1, p. 77-83, 2011.

SERRANO, A.; SILES, J. A.; CHICA, A. F.; MARTÍN, M. A. Agri-food waste valorization through anaerobic co-digestion: fish and strawberry residues. **Journal of Cleaner Production**, v. 54, p. 125-132, 2013.

SIMONETTI, A.; MARQUES, W. M.; COSTA, L. V. C. Produtividade de capim-mombaça (*panicum maximum*), com diferentes doses de biofertilizante. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 10, n. 1, p. 107-115, 2016.

SMITH, L. E. D.; SICILIANO, G. A comprehensive review of constraints to improved management of fertilizers in China and mitigation of diffuse water pollution from agriculture. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 209, p. 15-25, 2015.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. **Advances in Botanical Research**, v. 51, p. 283-320, 2009.

TIMM, P. J.; GOMES, J. C. C.; MORSELLI, T. B. Insumos para agroecologia: Pesquisa em vermicompostagem e produção de biofertilizantes líquidos. **Revista Ciência & Ambiente**, v. 29, p. 131-149, 2004.

ZHANG, Y.; BURRIS, R. H.; LUDDEN, P. W.; ROBERTS, G. P. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 152, p. 195-204, 1997.

WILLIAMS, L.; MILLER, A. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 52 p. 659-688, 2001.

**PRODUTIVIDADE DE MILHO EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE  
BIOFERTILIZANTE COM RESÍDUO DE PESCADO E RIZOBACTÉRIAS**

---

**CAPÍTULO II**

1 **Produtividade de milho em função da aplicação de biofertilizante com resíduo de**  
2 **pescado e rizobactérias**

3  
4 **Maize yield depending on of the application of biofertilizers with fish waste and**  
5 **rhizobacteria**

6  
7 **RESUMO** – Utilizar resíduo orgânico para a produção de biofertilizante é uma alternativa  
8 viável que visa à produção sustentável nos agroecossistemas. O objetivo da pesquisa foi testar  
9 a hipótese que a adição de resíduos de pescados em substituição ao esterco bovino em  
10 biofertilizantes com adição de bactéria diazotróficas (*Azospirillum brasilense*) aumentam a  
11 produtividade e eficiência de uso do nitrogênio no cultivo de milho orgânico. Os tratamentos  
12 foram constituídos de biofertilizantes com proporções de resíduos de pescados (RP) e esterco  
13 bovino (EP): (B.0RP: 100EB) = 0% RP: 100% EB, (B.25RP: 75EB) = 25% RP: 75% EP,  
14 (B.50RP: 50EB) = 50% RP: 50% EP, (B.75RP: 25EB) = 75% RP: 25% EB e (B.100RP: 0EB)  
15 = 100% RP: 0% EB, com ou sem adição de *Azospirillum brasilense* nos biofertilizantes. A  
16 substituição de 100% de esterco bovino por resíduo de pescado no biofertilizante sem bactéria  
17 aumentou em 27% a produtividade do milho. A adição da bactéria no biofertilizante  
18 aumentou a média de produtividade do tratamento B.0RP: 100EB. A adição da bactéria no  
19 biofertilizante aumentou o nitrogênio remobilizado e o absorvido pós-antese, em comparação  
20 aos biofertilizantes sem bactéria. Independente da adição ou não da bactéria, os tratamentos  
21 com 100% de esterco bovino no biofertilizante alcançou maior eficiência de uso de nitrogênio  
22 quando comparado com os demais tratamentos. Nossos resultados indicam que a substituição  
23 de esterco bovino por resíduo de pescado para a produção de biofertilizante é uma boa  
24 alternativa para melhorar as variáveis de produção da cultura de milho.

25 **Palavras chaves:** Agricultura orgânica. Composto orgânico. *Azospirillum brasilense*. Fixação  
26 de nitrogênio.

27 **ABSTRACT** - Use organic waste to biofertilizers production is a viable alternative that aims  
28 at sustainable production in agro-ecosystems. The aim was test the hypothesis that addition of  
29 waste of fish to replace the cattle manure in biofertilizers with added nitrogen fixing bacteria  
30 (*Azospirillum brasilense*) improve productivity and nitrogen use efficiency in organic maize  
31 cultivation. The treatments consisted of biofertilizers with fish waste (FW) proportions and  
32 cattle manure (CM): (B.0FW: 100CM) = 0% RP: 100% CM, (B.25FW: 75CM) = 25% FW:  
33 75% CM, (B.50FW: 50CM) = 50% FW: 50% CM, (B.75FW: 25CM) = 75% FW: 25% CM  
34 and (B.100FW: 0CM) = 100% FW: 0% CM, with or without the addition of *Azospirillum*  
35 *brasilense* in biofertilizer. The replacement of 100% of cattle manure for fish waste in  
36 biofertilizers without bacteria increased by 27% maize yield. The addition of bacteria in  
37 biofertilizers increases average productivity of treatment B.0FW: 100CM. The addition of the  
38 bacteria in biofertilizers increased remobilized nitrogen and post-anthesis absorbed compared  
39 to biofertilizers without bacteria. Independent of the addition or not the bacteria, treatment  
40 with 100% of cattle manure in biofertilizers achieved greater efficiency of nitrogen use  
41 compared to the other treatments. Our results indicate that replacement of manure by the fish  
42 waste for biofertilizer production is a good alternative to improve the production variables of  
43 the maize crop.

44 **Key words:** Organic agriculture. Organic compost. *Azospirillum brasilense*. Nitrogen  
45 fixation.

## 46 INTRODUÇÃO

47 O nitrogênio é o nutriente mais exigido pelas plantas de milho, e normalmente alta  
48 dosagem desse nutriente é relacionada com alta produtividade da cultura (HU *et al.*, 2013).  
49 Contudo, o excesso de fertilizantes químicos nitrogenados aplicados no solo acarreta sérios

50 danos ambientais Logo, é necessário buscar fontes alternativas que substituam ou diminuam a  
51 dependência de adubos nitrogenados de origem química, assim como aumentar a eficiência de  
52 uso de nitrogênio pela cultura do milho. Uma das formas é o uso de bactérias diazotróficas.

53 A bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilenses* tem a capacidade de fixar nitrogênio  
54 atmosférico em associação com plantas de milho. Morais *et al.* (2016) relatam em seus  
55 estudos que aplicações de *Azospirillum brasilense* em cultivo de milho resulta numa menor  
56 quantidade de adubação nitrogenada para atingir altas produtividade na cultura. Além disso,  
57 pesquisas demonstraram que essa bactéria é capaz de produzir fitohormônios (auxina,  
58 citocinina e giberelinas) que podem induzir o crescimento radicular e conseqüentemente  
59 melhorar absorção de água e nutrientes pelas plantas (DOORBONS; VAN LOON; BAKKER,  
60 2012).

61 Outra prática que se destaca nos cultivos agrícolas sustentáveis é a utilização de  
62 biofertilizantes. Estes são produtos que contém células vivas ou latentes de microrganismos  
63 que ajudam a absorção de nutrientes pelas plantas cultivadas, por meio de suas interações com  
64 a rizosfera quando aplicados no solo (MISHRA; DADLICH, 2010). Dentro da agricultura  
65 orgânica, os biofertilizantes são usados particularmente para suprir a demanda de nutrientes  
66 das plantas (GRIGATTI *et al.*, 2011), promover o crescimento das plantas (MEDEIROS *et al.*  
67 2011) e também aumentar as defesas das plantas contra patógenos e herbívoros (KUPPER *et*  
68 *al.*, 2006). Santos *et al.* (2011) estudando doses de biofertilizantes com dejetos de suínos,  
69 verificaram que com o aumento das doses houve efeito linear positivo na produtividade e teor  
70 de nitrogênio das plantas de milho.

71 Existem diferentes tipos de biofertilizantes e suas diferenças são principalmente pelo  
72 uso de diversas fontes de matéria-prima e seu modo de utilização. A simples mistura em  
73 proporções iguais entre água e esterco bovino é a mais utilizada na produção de  
74 biofertilizantes (TIMM; GOMES; MORSELLI, 2004). No entanto, o esterco bovino pode

75 conter substâncias tóxicas que prejudicam a fermentação anaeróbica e conseqüentemente a  
76 produção de biofertilizantes (RIVERA-CRUZ *et al.*, 2008).

77 Resíduos de pescados oriundos do processo de beneficiamento de pescado possuem  
78 matéria orgânica rica em fonte de nutrientes, mas frequentemente são descartados em lixões.  
79 Esses resíduos já são bastante utilizados na produção de óleo e na fabricação de ração animal  
80 (LOPES *et al.*, 2015). Além disso, podem ser utilizados na digestão anaeróbica com alto  
81 potencial para a produção de biogás (KAFLE; KIM; SUNG, 2013) e como biofertilizantes  
82 com altas concentrações de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo (ESTEVEZ *et al.*,  
83 2014), que pode ser vinculado como importante fonte de nitrogênio para as planta.

84 Assim o objetivo dessa pesquisa foi testar a hipótese que a adição de resíduos de  
85 pescados em substituição ao esterco bovino em biofertilizantes com adição de bactéria  
86 diazotróficas (*Azospirillum brasilense*) aumentam a produtividade e eficiência de uso do  
87 nitrogênio no cultivo de milho orgânico.

## 88 MATERIAL E MÉTODOS

89 O ensaio de campo foi conduzido durante os meses de março a junho de 2015, na área  
90 experimental da Empresa Alimentum Ltda, certificada para a produção orgânica, no  
91 município de São Luís, Maranhão. As coordenadas geográficas locais de referência são  
92 2°37'39,69'' S de latitude e 44°11'15,7'' W de longitude. O clima da região é do tipo Aw', de  
93 acordo com a classificação de Koppen, com duas estações bem definidas: uma estação  
94 chuvosa (janeiro a junho) e outra estação seca (julho a dezembro). A precipitação média anual  
95 é de 2.100 mm e a temperatura média de 26,7 °C.

96 O solo da área experimental é classificado como ARGISSOLO VERMELHO-  
97 AMARELO Distrófico (EMBRAPA, 2013), e continha as seguintes características químicas e  
98 físicas na camada de 0 a 20 cm: pH (em solução CaCl<sub>2</sub>) = 5,2; P-Resina (mg dm<sup>-3</sup>) = 495, K  
99 (mmolc dm<sup>-3</sup>) = 2,2, Ca (mmolc dm<sup>-3</sup>) = 35, Mg (mmolc dm<sup>-3</sup>) = 15, Acidez Potencial (mmolc

100  $\text{dm}^{-3}$ ) = 11; Matéria orgânica = 30 g  $\text{dm}^{-3}$ ; V(%) = 83; Soma de bases = 52,2 (mmolc  $\text{dm}^{-3}$ );  
101 CTCt = 63,2 (mmolc  $\text{dm}^{-3}$ ); argila = 160 g  $\text{kg}^{-1}$ , silte = 120 g  $\text{kg}^{-1}$ , areia grossa = 190 g  $\text{kg}^{-1}$  e  
102 areia fina = 530 g  $\text{kg}^{-1}$ .

103 Os tratamentos foram arrançados no esquema fatorial 2 x 5 + 1, no delineamento em  
104 blocos ao acaso, com quatro repetições. O primeiro fator foi constituído pela presença e  
105 ausência de bactéria *Azospirillum brasilense* nos biofertilizantes e o segundo fator foi  
106 constituído por cinco proporções de resíduos de pescados (RP) e esterco bovino (EB) (B.0RP:  
107 100EB = 0% RP + 100% EB, B.25RP: 75EB = 25% RP + 75% EP, B.50RP: 50EB = 50% RP  
108 + 50% EP, B.75RP: 25EB = 75% RP + 25% EB e B.100RP: 0EB = 100% RP + 0% EB).  
109 Ainda foi utilizado um tratamento adicional sem aplicação de biofertilizante. A parcela  
110 experimental foi constituída por cinco fileiras de 4,0 m de comprimento com espaçamento de  
111 0,5 m entre linhas e 0,4 m entre plantas. Para efeito de coleta de dados foram consideradas as  
112 três linhas centrais, eliminando-se 0,5 m nas extremidades das fileiras, o que totalizou uma  
113 área útil de 4,5  $\text{m}^2$ .

114 Os biofertilizantes líquidos foram preparados a partir de uma mistura de insumos locais  
115 juntamente com RP e EB, com ou sem adição *Azospirillum brasilense*, com fermentação  
116 anaeróbica, durante 40 dias. Em recipiente plástico, foram misturados os seguintes  
117 constituintes do biofertilizante nas proporções para obtenção de 10 L de biofertilizante padrão  
118 (B.0RP: 100EB): 2 kg de esterco bovino, 0,2 kg de cana triturada, 0,1 kg de cinza, 0,1 kg de  
119 fosfato natural, 0,04 kg de ácido bórico, 0,04 kg de sulfato de zinco e 0,2 L de leite bovino.  
120 Os outros biofertilizantes foram formulados nas proporções já mencionadas de RP e EB,  
121 seguindo a mesma quantidade para o restante dos constituintes. Após a homogeneização dos  
122 componentes, o volume foi completado com 8 L de água corrente e o recipiente de 10 L foi  
123 hermeticamente fechado. Na parte superior do recipiente foi feito um respirador com uma  
124 mangueira de 5 mm de diâmetro, com a ponta submersa em recipiente contendo água, visando

125 a saída de gás metano e o impedimento da entrada de ar no sistema. A adição de bactérias  
 126 fixadoras de nitrogênio, na forma de inoculante líquido baseado na cepa de *Azospirillum*  
 127 *brasilense* com concentração de  $1 \times 10^8$  ufc mL<sup>-1</sup>, foi de 50 mL em cada galão de 10 L. A  
 128 análise química para todos componentes dos biofertilizantes e dos diferentes biofertilizantes  
 129 formulados está indicada na Tabela 1.

130 **Tabela 1** – Composição química de macronutrientes e micronutrientes dos biofertilizantes e  
 131 de seus componentes.

Biofertilizantes	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn
B.0RP: 100EB SB	1,05	0,04	1,86	0,22	-	29,29	-	-	-
B.25RP: 75EB SB	1,98	0,06	1,95	0,29	-	28,12	-	32,70	-
B.50RP: 50EB SB	2,97	0,15	1,45	0,33	0,02	25,91	-	42,03	-
B.75RP: 25EB SB	4,60	0,12	0,84	0,41	0,04	41,48	-	41,28	-
B.100RP: 0EB SB	6,05	0,21	0,36	0,37	0,04	41,27	-	45,01	-
B.0RP: 100EB CB	0,95	0,02	2,03	0,26	0,10	38,35	-	-	-
B.25RP: 75EB CB	1,59	0,06	2,03	0,30	0,06	41,27	-	11,04	-
B.50RP: 50EB CB	2,78	0,08	1,56	0,35	0,02	56,71	-	21,97	-
B.75RP: 25EB CB	4,15	0,17	1,33	0,54	0,02	36,57	-	41,72	-
B.100RP: 0EB CB	5,13	0,14	0,38	0,33	0,01	56,44	-	62,24	-
Componentes	----- g kg <sup>-1</sup> -----					----- mg kg <sup>-1</sup> -----			
Resíduo de Pescado	124,6	7,33	2,77	9,91	0,56	33,91	197,22	29,73	-
Esterco Bovino	7,77	2,95	6,50	3,24	1,14	3038,6	6,39	39,25	31,30
Cinza	1,70	2,61	8,05	12,35	3,21	502,42	75,70	0,40	52,14
Cana-de-açúcar	5,20	1,30	1,51	1,12	0,62	69,94	-	-	3,30

132

133 Para instalação do experimento, o preparo da área foi seguido de roçagem, abertura dos  
 134 sulcos com aproximadamente 10 cm de profundidade, adubação do solo e plantio. Foram  
 135 semeadas três sementes de milho híbrido AG 1051, a cada 0,40 m de sulco, e posterior  
 136 desbaste aos 10 dias após semeadura (DAS), quando se deixou apenas uma planta, obtendo-se  
 137 uma população de 50.000 plantas ha<sup>-1</sup>. Na adubação de semeadura foram aplicados 42 kg ha<sup>-1</sup>  
 138 de N, 30 kg ha<sup>-1</sup> de P e 47 kg ha<sup>-1</sup> de K, o que corresponde a 6 t ha<sup>-1</sup> esterco bovino, 100 kg  
 139 ha<sup>-1</sup> de fosfato natural e 1 t ha<sup>-1</sup> cinza. As aplicações dos biofertilizantes foram realizadas via

140 solo nos estádios V4 (17 DAS), V6 (27 DAS), V8 (36 DAS) e V10 (44 DAS) das plantas de  
141 milho, com volume de calda correspondente a 400 L ha<sup>-1</sup>, com diluição em água a 20%.

142 No estágio de antese, aos 54 DAS, para a determinação dos parâmetros de crescimento,  
143 avaliaram-se as seguintes variáveis: altura de planta - medida pela distância vertical entre a  
144 superfície do solo e o ponto de inserção da última folha de cinco plantas de milho da área útil  
145 de cada parcela, e o índice de área foliar (IAF) - calculado pela fórmula  $0,75 \times \text{comprimento}$   
146  $\times \text{largura}$  (MONTGOMERY, 1911).

147 No estágio de maturação, aos 116 DAS, para a determinação da produtividade, foram  
148 colhidas as espigas com pelo menos um grão formado de cinco plantas da área útil de cada  
149 parcela. Foram determinados o comprimento e o diâmetro da espiga sem palha. O  
150 comprimento foi medido em centímetros, usando-se uma trena e o diâmetro em milímetro,  
151 sendo utilizado um paquímetro digital. O número de grãos por espiga foi determinado a partir  
152 do número médio de grãos de quatro fileiras multiplicado pelo número de fileiras da  
153 respectiva espiga. Para determinar a massa média de 100 grãos, foram separadas três amostras  
154 aleatórias de cada unidade experimental para compor um valor médio da parcela. A  
155 produtividade foi determinada pela massa média de grão por planta estimando-se para o  
156 estande de 50.000 plantas ha<sup>-1</sup>, corrigindo a 13% de água.

157 Para determinar o índice de colheita (IC), eficiência de uso de nitrogênio, nitrogênio  
158 remobilizado e absorvido pós-antese foram determinados a massas secas e os teores de  
159 nitrogênio total (N total) nos estádios de antese e maturação. Três plantas de milho de cada  
160 parcela foram coletadas para secagem em estufa a temperatura de 60 °C até atingir massa  
161 constante. Após a secagem as plantas foram pesadas em balança digital. O teor de N-total (g  
162 kg<sup>-1</sup>), nas amostras de plantas e grãos secas foi determinado, conforme descrição de Tedesco  
163 *et al.* (1995) e titulação pelo método de Kjeldahl. O conteúdo de N foi obtido pela  
164 multiplicação do teor de N pela massa seca da planta.

165 O índice de colheita (IC): refere-se à fração de massa seca dos grãos colhida em relação  
166 à massa seca total (grãos, folhas e colmo). Calculado pela fórmula:  $IC = \frac{MSG}{MSG+MSFC}$  (kg kg<sup>-1</sup>),  
167 onde: MSG = massa seca dos grãos e MSFC = massa seca das folhas e colmo.

168 Nitrogênio remobilizado (NR): refere-se ao conteúdo de N que foi remobilizado para os  
169 grãos. Calculado pela fórmula:  $NR = ENA - ENM$  (kg ha<sup>-1</sup>), onde: ENA = conteúdo de N das  
170 folhas e colmo na antese e ENM = conteúdo de N das folhas e colmo na maturação.

171 Nitrogênio absorvido pós-antese (NAPA): refere-se ao conteúdo de N que foi  
172 remobilizado para os grãos. Calculado pela fórmula:  $NAPA = ENM - ENA$  (kg ha<sup>-1</sup>), onde:  
173 ENA = conteúdo de N das folhas e colmo na antese e ENM = conteúdo de N das folhas,  
174 colmo e grão na maturação.

175 Eficiência do uso de nitrogênio (EUN): relação entra a produtividade e a quantidade  
176 aplicada de N. Calculado pela fórmula:  $EUN = \frac{MSG}{NAPL}$  (kg kg<sup>-1</sup>), onde: MSG = massa de  
177 matéria seca de grão; NAPL = nitrogênio aplicado.

178 Foram aplicados testes de normalidade (teste de Lilliefors) e homogeneidade de  
179 variância (testes de Bartlet e Cochran) para atender as pressuposições da análise de variância  
180 (ANOVA). Os dados experimentais foram submetidos a análises de variância e testes de  
181 médias. Os tratamentos que diferiram significativamente pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ) foram  
182 comparados pelo teste de Tukey, ao nível de  $p \leq 0,05$  de probabilidade. O software estatístico  
183 utilizado para a execução das análises estatísticas foi o Sistema para Análises Estatísticas e  
184 Genéticas SAEG versão 9.1 (SAEG, 2007).

## 185 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

186 Houve interação significativa entre os biofertilizantes e a adição da bactéria  
187 *Azospirillum brasiliense* apenas sobre o número de grão por espiga ( $p \leq 0,01$ ) e produtividade  
188 ( $p \leq 0,05$ ). A média do fatorial diferiu significativamente do tratamento controle nas seguintes  
189 variáveis: índice de área foliar, comprimento de planta, número de grão por espiga,

190 produtividade e índice de colheita, que pode sustentar a importância de adubações de  
191 coberturas com biofertilizantes no cultivo de milho (Tabela 2).

192 **Tabela 2** - Resumo da análise de variância dos parâmetros relacionados ao crescimento e  
193 produção em função da adição da bactéria nos biofertilizantes e aplicação dos diferentes tipos  
194 de biofertilizantes, mais tratamento adicional sem aplicação dos biofertilizantes.

FV	Valores do Teste F								
	GL	ALT	IAF	COMP	DIAM	NUMG	M100G	PROD	IC
Bactérias (Bact)	1	3,30 <sup>ns</sup>	0,10 <sup>ns</sup>	1,23 <sup>ns</sup>	5,70 <sup>ns</sup>	7,31 <sup>*</sup>	0,6 <sup>ns</sup>	4,90 <sup>*</sup>	0,004 <sup>ns</sup>
Biofertilizantes (Bio)	4	2,64 <sup>ns</sup>	1,40 <sup>ns</sup>	0,76 <sup>ns</sup>	1,16 <sup>ns</sup>	6,95 <sup>**</sup>	1,61 <sup>ns</sup>	1,46 <sup>ns</sup>	1,45 <sup>ns</sup>
Bact x Bio	4	0,56 <sup>ns</sup>	2,14 <sup>ns</sup>	1,29 <sup>ns</sup>	1,26 <sup>ns</sup>	5,71 <sup>**</sup>	0,9 <sup>ns</sup>	2,91 <sup>*</sup>	0,69 <sup>ns</sup>
Fatorial vs controle	1	0,54 <sup>ns</sup>	4,72 <sup>*</sup>	6,41 <sup>*</sup>	2,64 <sup>ns</sup>	10,44 <sup>**</sup>	3,4 <sup>ns</sup>	16,91 <sup>**</sup>	5,07 <sup>*</sup>
Resíduo	30								
CV (%)	-	6,56	10,11	5,37	3,17	4,93	9,65	10,2	6,25

195 ALT - Altura de planta (cm); IAF - Índice de área foliar; COMP - Comprimento de espiga  
196 (cm); DIAM - Diâmetro de espiga (mm); NUMG - Número de grão por espiga; M100G -  
197 massa de 100 grãos (g); PROD - produtividade (kg ha<sup>-1</sup>); IC - Índice de colheita (kg kg<sup>-1</sup>); ns -  
198 não significativo, \* e \*\* - significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.  
199

200 Houve interação significativa entre os biofertilizantes e a adição da bactéria  
201 *Azospirillum brasiliense* apenas sobre a eficiência do uso de nitrogênio (p≤0,01). Houve  
202 diferença significativa quando avaliou o efeito isolado da adição de bactéria no biofertilizante  
203 para as variáveis, nitrogênio remobilizado (p≤0,01) e nitrogênio absorvido pós-antese  
204 (p≤0,05). A aplicação dos biofertilizantes apresentou diferença significativa (p≤0,01) somente  
205 na variável nitrogênio remobilizado (p≤0,01). A média do fatorial diferiu da testemunha para  
206 as variáveis, nitrogênio absorvido pós-antese e eficiência do uso de (Tabela 3).

207 **Tabela 3** - Resumo da análise de variância dos parâmetros relacionados ao uso do N em  
208 função da adição da bactéria nos biofertilizantes e aplicação dos diferentes tipos de  
209 biofertilizantes, mais tratamento adicional sem aplicação de biofertilizante.

FV	Valores do Teste F			
	GL	NR	NAPA	EUN
Bactérias (Bact)	1	15,73 <sup>**</sup>	4,98 <sup>*</sup>	32,51 <sup>**</sup>
Biofertilizantes (Bio)	4	13,17 <sup>**</sup>	0,96 <sup>ns</sup>	196,29 <sup>**</sup>
Bact x Bio	4	2,10 <sup>ns</sup>	2,08 <sup>ns</sup>	6,82 <sup>**</sup>
Fat vs test	1	0,33 <sup>ns</sup>	8,95 <sup>**</sup>	39275 <sup>**</sup>
Resíduo	30			
CV (%)		14,4	15,01	5,78

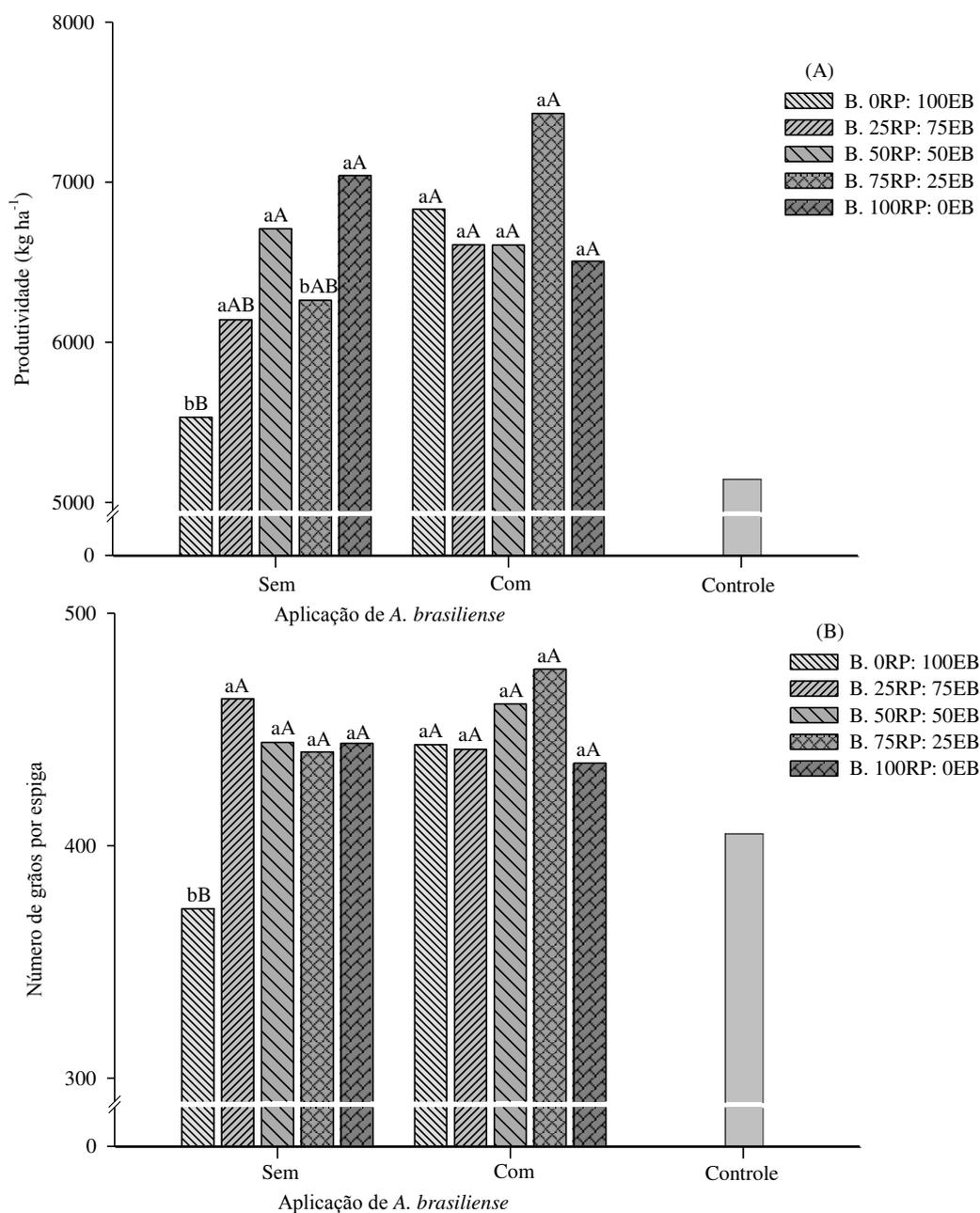
210 FAT - Fatorial; TEST - Testemunha; NR - Nitrogênio remobilizado ( $\text{kg ha}^{-1}$ ); NAPA -  
211 Nitrogênio absorvido pós-antese ( $\text{kg ha}^{-1}$ ); EUN - Eficiência de uso de nitrogênio ( $\text{kg kg}^{-1}$ ); ns  
212 - não significativo, \* e \*\* - significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.  
213

214 Todos os tratamentos, exceto o tratamento B.0RP: 100EB sem a presença de bactéria,  
215 apresentam incrementos de mais de  $1 \text{ t ha}^{-1}$  na produtividade do milho pelo uso de  
216 biofertilizante como adubação de cobertura, comparando-se com o controle que não recebeu  
217 biofertilizante (Figura 1A). A substituição do esterco bovino por resíduos de pescados nos  
218 biofertilizantes sem bactéria aumentou em até 24% o número de grãos por espiga e até 27% a  
219 produtividade do milho, em comparação ao tratamento B.0RP: 100EB (Figura 1A e 1B).  
220 Segundo Hu *et al.* (2013), o nitrogênio é o nutriente mais importante para alcançar alta  
221 produtividade na cultura do milho, pois possui relação direta com o crescimento da planta,  
222 formação de novas células, tecidos e clorofilas, que conseqüentemente, irão incrementar os  
223 rendimentos da cultura. Isso pode explicar as maiores médias do número de grãos por espiga e  
224 produtividade resultante da aplicação de biofertilizantes com maior quantidade de resíduos de  
225 pescados, que possuem maiores concentrações de nitrogênio (Tabela 1).

226 A adição da bactéria nos biofertilizantes aumentou a média dos tratamentos B.0RP:  
227 100EB e B.75RP: 25EB para as variáveis produtividade e número de grãos por espiga (Figura  
228 1A e 1B). Assim, não houve mais diferença significativa entre os tratamentos com diferentes  
229 biofertilizantes nas variáveis mencionadas (Figura 1A e 1B). Isso pode ser explicado pelos  
230 biofertilizantes estudados terem servido de inóculo para a sobrevivência e crescimento das  
231 bactérias que podem aumentar a produtividade via fixação de nitrogênio (MORAES *et al.*,  
232 2016). Os resultados corroboram com os resultados de Hungria *et al.* (2010), onde verificaram  
233 que a inoculação da bactéria aumentou em 30% a produtividade de milho quando comparou  
234 com as plantas que não foram inoculadas. No entanto, uma ressalva na interpretação do nosso  
235 estudo foi que não avaliamos a presença da bactéria nos biofertilizantes, bem como o tamanho  
236 de sua população, e estudos futuros deveriam ser feitos para avaliação dessas variáveis.

237 Segundo Rivera Cruz et al (2008), biofertilizantes a base de esterco de galinha e resíduos de  
 238 banana serviram de inóculo para bactérias promovendo melhoria no crescimento e produção  
 239 do cultivo de banana.

240 **Figura 1** - Valores médios de produtividade (A) e número de grãos por espiga (B) em plantas  
 241 de milho, em função da aplicação dos diferentes biofertilizantes, sem e com adição de bactéria  
 242 *Azospirillum brasilense* (Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si a 5% de  
 243 probabilidade pelo teste de Tukey, sendo letras minúsculas entre adição de bactéria e  
 244 maiúscula entre os biofertilizantes).



245

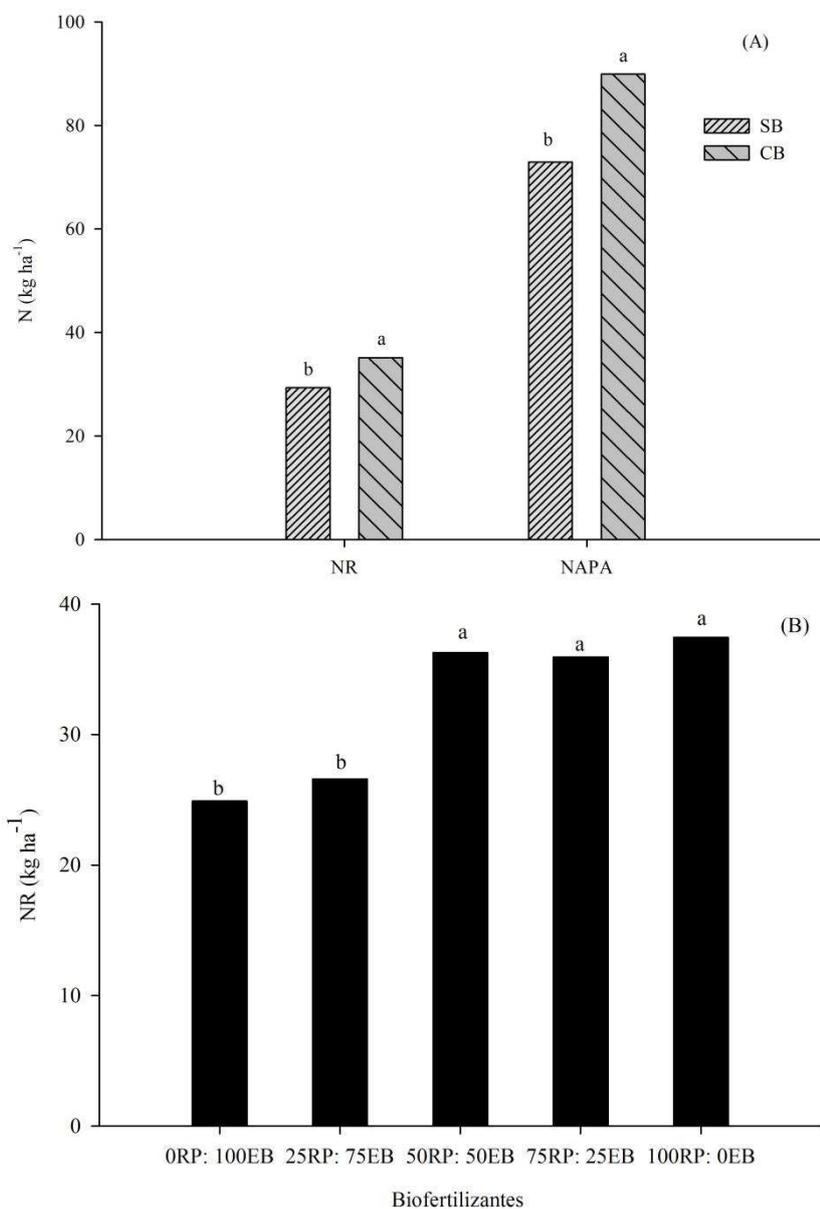
246

247 A absorção de nitrogênio é altamente dependente do desenvolvimento radicular das  
248 plantas, que resulta numa maior absorção e menor lixiviação do nitrogênio (GARNETT;  
249 CONN; KAISER, 2009). A adição da bactéria no biofertilizante aumentou em 20% o  
250 nitrogênio remobilizado e em 24% o nitrogênio absorvido pós-antese, em comparação à  
251 ausência da bactéria no biofertilizante (Figura 2A). A presença da bactéria *Azospirillum*  
252 *brasilense* em cultivos de milho estimula a produção de fitohormônios, como auxinas e  
253 citocininas, que são essenciais para aumentar o crescimento radicular da planta  
254 (DOORBONS; VAN LOON; BAKKER, 2012). Portanto, presença da bactéria no  
255 biofertilizante pode explicar porque a remobilização de nitrogênio e absorção pós-antese  
256 foram superiores nesses tratamentos.

257 Absorção e assimilação do nitrogênio durante o período de enchimento de grãos é  
258 geralmente insuficiente pela alta demanda das sementes por nitrogênio. A remobilização que  
259 ocorre sucessivamente nos diferentes órgãos da planta é necessária para disponibilizar o  
260 nitrogênio às sementes (MASCLAUX-DAUBRESSE, 2009). Contudo, a remobilização de  
261 nitrogênio pode acelerar a senescência foliar e reduzir a atividade fotossintética da planta,  
262 diminuindo assim a produtividade (HUANG *et al.*, 2007). As plantas que receberam bactéria  
263 tiveram maior teor de nitrogênio absorvido pós-antese, o que minimizou os efeitos negativos  
264 provocados pela remobilização de nitrogênio.

265 Os biofertilizantes que receberam resíduos de pescados em substituição ao esterco  
266 bovino apresentaram diferença significativa quanto ao nitrogênio remobilizado a partir do  
267 tratamento B.50RP: 50EB, quando se comparou com os tratamentos B.0RP: 100EB e  
268 B.25RP: 75EB. Os tratamentos de maiores médias (B.50RP: 50EB, B.75RP: 25EB e  
269 B.100RP: 0EB) alcançaram um incremento que variou de 35 a 50% de nitrogênio  
270 remobilizado ao se comparar com os demais tratamentos (B.0RP: 100EB e B.25RP: 75EB)  
271 (Figura 2B).

272 **Figura 2** - Valores médios de nitrogênio remobilizado e nitrogênio absorvido pós-antese em  
 273 plantas de milho em função da adição de bactéria no biofertilizante (A) e nitrogênio  
 274 remobilizado em função da aplicação dos diferentes biofertilizantes em plantas de milho (B),  
 275 (Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si a 5% de probabilidade pelo teste de  
 276 Tukey, sendo letras minúsculas entre adição de bactéria e maiúscula entre os biofertilizantes).



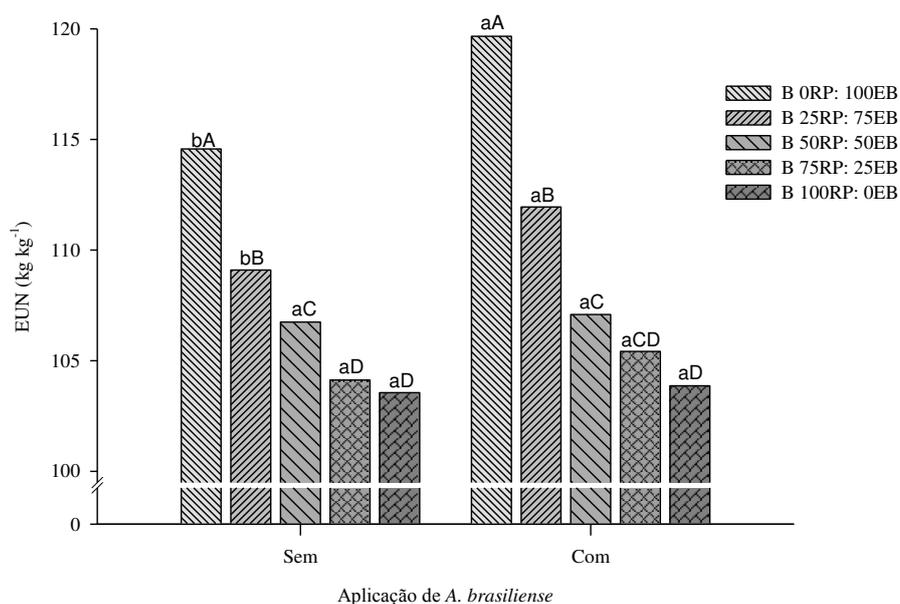
277

278 A diferença altamente significativa entre a média de eficiência do uso de nitrogênio da  
 279 testemunha quando comparada às médias dos tratamentos do fatorial é causada por falta de  
 280 adubação de biofertilizante em cobertura, que fez a planta trabalhar de forma limitada  
 281 aumentando a sua eficiência do uso de nitrogênio. Esse resultado é justificado pelo bom  
 282 índice químico e físico do solo, alcançado pelo manejo orgânico do solo.

283 Os resultados do estudo corroboram com os resultados de Dawson; Huggins e Jones  
 284 (2008), que concluíram que plantas de milho podem responder positivamente com baixa  
 285 dosagem de nitrogênio, quando são cultivadas em solos com manejos conservacionistas,  
 286 aumentando a eficiência do uso de nitrogênio das plantas de milho.

287 A ausência de resíduos de pescados nos biofertilizantes aumentou em até quatro vezes a  
 288 eficiência do uso de nitrogênio, tanto para os biofertilizantes sem bactéria, quanto para os  
 289 biofertilizantes com bactéria, com decréscimo da eficiência do uso de nitrogênio com  
 290 aumento da concentração de resíduos de pescados em substituição ao esterco bovino (Figura  
 291 3). A baixa eficiência do uso de nitrogênio dos biofertilizantes com maiores concentrações de  
 292 resíduos de pescados é justificada pelo maior teor de nitrogênio nos biofertilizantes com esses  
 293 resíduos (Tabela 1). Os tratamentos B.0RP: 100EB e B.25RP: 75EB com adição de bactéria  
 294 nos biofertilizantes aumentaram em 35% e 31%, respectivamente, quando comparado aos  
 295 mesmos tratamentos sem adição da bactéria no biofertilizante (Figura 3).

296 **Figura 3** - Valores médios de eficiência do uso de nitrogênio em plantas de milho,  
 297 considerando em função da aplicação dos diferentes biofertilizantes, sem e com adição de  
 298 bactéria *Azospirillum brasilense* (Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si a 5%  
 299 de probabilidade pelo teste de Tukey, sendo letras minúsculas entre adição de bactéria e  
 300 maiúscula entre os biofertilizantes).



302 Zhang *et al.* 2012 também observaram que quanto maior a quantidade de nitrogênio  
303 aplicado no solo, menor foi à eficiência do uso de nitrogênio das plantas de arroz. Esses  
304 autores sugerem novos estudos com menor quantidade de nitrogênio aplicado, para aumentar  
305 a eficiência do uso de nitrogênio, assim como evitar seu desperdício.

### 306 CONCLUSÃO

- 307 1. A substituição de esterco bovino por resíduo de pescado na produção de biofertilizante  
308 sem bactéria é uma boa alternativa para a cultura de milho, já que houve aumento na  
309 produtividade e no número de grãos por espiga quando comparado aos biofertilizantes com  
310 100% de esterco bovino;
- 311 2. A adição de bactéria no biofertilizante com 100% de esterco bovino promove aumento na  
312 produtividade e número de grãos por espiga;
- 313 3. A substituição de esterco bovino por resíduo de pescado aumenta a quantidade de  
314 nitrogênio remobilizado. Já a presença de *Azospirillum brasilense* no biofertilizante aumenta a  
315 quantidade de nitrogênio remobilizado e absorvido pós-antese;
- 316 4. Biofertilizante com proporção de 100% de esterco bovino, com ou sem bactéria apresenta  
317 maior eficiência de uso de nitrogênio quando comparado com os demais tratamentos.

### 318 AGRADECIMENTOS

319 A CAPES pela concessão da bolsa de estudos. A FAPEMA pelo apoio financeiro na  
320 execução do projeto. A Universidade Estadual do Maranhão - UEMA e ao Programa de Pós-  
321 Graduação em Agroecologia, pela oportunidade.

### 322 REFERÊNCIAS

323 DAWSON, J. C.; HUGGINS, R. H.; JONES, S. S. Characterizing nitrogen use efficiency in  
324 natural and agricultural ecosystems to improve the performance of cereal crops in low-input  
325 and organic agricultural systems. **Field Crops Research**, v. 107, p. 89-101, 2008.

- 326 DOORNBOS, R. F.; VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M. Impact of root exudates and  
327 plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. **Agronomy for**  
328 **Sustainable Development**, v. 32, p. 227-243, 2012.
- 329 EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Centro  
330 Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Brasília:  
331 Embrapa Solos, 2013. 353p.
- 332 ESTEVEZ, M. M. *et al.* Incorporation of fish by-product into the semi-continuous anaerobic  
333 co-digestion of pre-treated lignocellulose and cow manure, with recovery of digested  
334 nutrientes. **Renewable Energy**, v. 66, p. 550-558, 2014.
- 335 GARNETT, T.; CONN, V.; KAISER, B. N. Root based approaches to improving nitrogen use  
336 efficiency in plants. **Plant Cell Environ**, v. 32, p. 1272-1283, 2009.
- 337 GRIGATTI, M. *et al.* Potential nitrogen mineralization, plant utilization efficiency and soil  
338 CO<sub>2</sub> emissions following the addition of anaerobic digested slurries. **Biomass & Bioenergy**,  
339 v. 35, n. 11, p. 4619-4629, 2011.
- 340 HU, H. *et al.* Coupling effects of urea types and subsoiling on nitrogen-water use and yield of  
341 different varieties of maize in northern China. **Field Crop Research**, v. 142, p. 85-94, 2013.
- 342 HUANG, Z. X. *et al.* Photosynthetic characteristics during grain filling stage of summer  
343 maize hybrids with high yield potential of 15.000 kg ha<sup>-1</sup>. **Scientia Agricultura Sinica**, v. 40,  
344 p. 1898-1906, 2007.
- 345 HUNGRIA, M. *et al.* Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A.*  
346 *lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant Soil**, v. 331, n. 1, p. 413-425,  
347 2010.
- 348 KAFLE, G. K.; KIM, S. H.; SUNG, K. Ensiling of fish industry waste for biogás production:  
349 A lab scale evaluation of biochemical methane potential (BMP) and kinetics. **Bioresource**  
350 **Technology**, v. 127, p. 326-336, 2013.

- 351 KUPPER, K. C. *et al.* Biofertilizer for control of *Guignardia citricarpa*, the causal agent of  
352 citrus black spot. **Crop Protection**, v. 25, p. 569-573, 2006.
- 353 LOPES, C. *et al.* Valorisation of fish by-products against waste management treatments –  
354 Comparison of environmental impacts. **Waste Management**, v. 46, p. 103-112, 2015.
- 355 MASCLAUX-DAUBRESSE, C. *et al.* Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in  
356 plants: challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of Botany**, v. 105, p.  
357 1141-1157, 2009.
- 358 MEDEIROS, R. F. *et al.* Crescimento inicial do tomateiro-cereja sob irrigação com águas  
359 salinas em solo com biofertilizantes bovino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e**  
360 **Ambiental**, v. 15, n. 5, p. 505-511, 2011.
- 361 MISHRA, B. K.; DADLICH, S. K. Methodology of nitrogen biofertilizer production. **Journal**  
362 **of Advances in development Research**, v. 1, p. 3-6, 2010.
- 363 MONTGOMERY, E. G. Correlation studies of com. **Annual Report Agricultural**  
364 **Experiment Station of Nebraska**, v. 24, p. 108-159, 1911.
- 365 MORAIS, T. P. de. *et al.* Inoculation of maize with *Azospirillum brasilense* in the seed  
366 furrow. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 2, p. 290-298, 2016.
- 367 RIVERA-CRUZ, M. C. *et al.* Poultry manure and banana waste are effective biofertilizer  
368 carriers for promoting plant growth and soil sustainability in banana crops. **Soil Biology &**  
369 **Biochemistry**, v. 40, p. 3092-3095, 2008.
- 370 SAEG. **Sistema para análises estatísticas**. Versão 9.1, Viçosa: Fundação Arthur Bernardes,  
371 2007.
- 372 SANTOS, M. R. dos. *et al.* Produção de milho-verde em resposta ao efeito residual da  
373 adubação orgânica do quiabeiro em cultivo subsequente. **Revista Ceres**, v. 58, n. 1, p. 77-83,  
374 2011.

375 TEDESCO, M. J. **Extração simultânea de N, P, K, Ca e Mg em tecido de planta por**  
376 **digestão por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul,  
377 1995. 23p.

378 TIMM, P. J.; GOMES, J. C. C.; MORSELLI, T. B. Insumos para agroecologia: Pesquisa em  
379 vermicompostagem e produção de biofertilizantes líquidos. **Revista Ciência & Ambiente**, v.  
380 29, p. 131-149, 2004.

381 ZHANG, Q. *et al.* Recovery efficiency and loss of 15N-labelled urea in a rice-soil system in  
382 the upper reaches of the Yellow River basin. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.  
383 158, p. 118-126, 2012.

**ANEXO**

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

**Atenção:** As normas da Revista Ciência Agronômica podem sofrer alterações, portanto não deixe de consultá-las antes de fazer a submissão de um artigo. Elas são válidas para todos os trabalhos submetidos neste periódico. Um modelo de artigo pode ser visto em “MODELO ARTIGO” no endereço <http://www.ccarevista.ufc.br>.

### 1. Política Editorial

A Revista Ciência Agronômica destina-se à publicação de **artigos científicos, artigos técnicos e notas científicas que sejam originais e que não foram publicados (as) ou submetidos (as) a outro periódico, inerentes às áreas de Ciências Agrárias e Recursos Naturais**. Os artigos poderão ser submetidos na Revista Ciência Agronômica nos idiomas português ou inglês. Para artigos submetidos em inglês, os autores deverão providenciar uma versão com qualidade (**tradução feita por um nativo ou empresa especializada**). **Todos os artigos serão publicados em inglês**. O texto em inglês, dos artigos aceitos para publicação, serão submetidos à correção e custeado pelos autores. O texto em português, dos artigos aceitos para publicação, serão traduzidos para o inglês e custeado pelos autores. e o comprovante enviado para a sede da RCA no ato da submissão através da nossa página no campo “Transferir Documentos Suplementares”.

Os trabalhos submetidos à RCA serão **avaliados preliminarmente pelo Comitê Editorial** e só então serão enviados para pelo menos dois (2) revisores da área e publicados, somente, se aprovados por eles e pelo Comitê Editorial. A publicação dos artigos será baseada na originalidade, qualidade e mérito científico, **cabendo ao Comitê Editorial a decisão final do aceite**. O sigilo de identidade dos autores e revisores será mantido durante todo o processo. A administração da revista tomará o cuidado para que os revisores de cada artigo sejam, obrigatoriamente, de instituições distintas daquela de origem dos autores. **O artigo que apresentar mais de cinco autores não terá a sua submissão aceita pela Revista Ciência Agronômica, salvo algumas condições especiais (ver Autores)**. Não serão permitidas mudanças nos nomes de autores *a posteriori*.

### 2. Custo de publicação

O custo é de **R\$ 45,00 (quarenta e cinco reais) por página editorada** no formato final. No ato da submissão é **requerido um depósito de R\$ 100,00 (cem reais) não reembolsáveis**. Se o trabalho for rejeitado na avaliação prévia do Comitê Editorial, a taxa paga não poderá ser reutilizada para outras submissões dos autores. O comprovante de depósito ou transferência deve ser enviado ao e-mail da RCA ([ccarev@ufc.br](mailto:ccarev@ufc.br)). No caso do trabalho conter impressão

colorida deverá ser pago um **adicional de R\$ 80,00 (oitenta reais) por página**. Os depósitos ou transferências deverão ser efetuados em nome de:

### **CETREDE CIENCIA AGRONOMIC**

Banco do Brasil: Agência bancária: **3653-6** - Conta corrente: **46.375-2**

As opiniões emitidas nos trabalhos são de exclusiva responsabilidade de seus autores. A Revista Ciência Agronômica reserva-se o direito de adaptar os originais visando manter a uniformidade da publicação. A RCA não mais fornece separatas ou exemplares aos autores. A distribuição na forma impressa da RCA é de responsabilidade da Biblioteca de Ciência e Tecnologia da Universidade Federal do Ceará sendo realizada por meio de permuta com bibliotecas brasileiras e do exterior. Na submissão online é requerido:

1. A concordância com a declaração de responsabilidade de direitos autorais;
2. Que o autor que fizer a submissão do trabalho **cadastre todos os autores no sistema**;
3. Identificação do autor de correspondência com endereço completo.

### **3. Formatação do Artigo**

**DIGITAÇÃO:** no máximo 20 páginas digitadas em espaço duplo (exceto Tabelas), fonte Times New Roman, normal, tamanho 12, recuo do parágrafo por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm. As linhas devem ser numeradas de forma contínua.

**ESTRUTURA:** o trabalho deverá obedecer à seguinte ordem: título, título em inglês, resumo, palavras-chave, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências.

**TÍTULO:** deve ser escrito com apenas a inicial maiúscula, em negrito e centralizado na página com no **máximo 15 palavras**. Como chamada de rodapé numérica, extraída do título, devem constar informações sobre a **natureza do trabalho** (se extraído de tese/dissertação, se pesquisa financiada,...) e referências às instituições colaboradoras. Os subtítulos: Introdução, Material e métodos, Resultados e discussão, Conclusões, Agradecimentos e Referências devem ser escritos em caixa alta, em negrito e centralizados.

**AUTORES:** na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé deverão ser omitidos. Somente na versão final o artigo deverá conter o nome de todos os autores com identificação em nota de rodapé, inclusive a do título. Os nomes completos (sem abreviaturas) deverão vir abaixo do título, somente com a primeira letra maiúscula, um após outro, separados por vírgula e centralizados na linha. Como nota de rodapé na primeira página, deve-se indicar, de cada autor, afiliação completa (departamento, centro, instituição, cidade, estado e país), endereço eletrônico e endereço completo do autor

correspondente. O autor de correspondência deve ser identificado por um "\*". **Só serão aceitos artigos com mais de cinco autores, quando, comprovadamente, a pesquisa tenha sido desenvolvida em regiões distintas (diferentes).**

**RESUMO e ABSTRACT:** devem começar com estas palavras, na margem esquerda, em caixa alta e em negrito, contendo no máximo **250 palavras**.

**PALAVRAS-CHAVE e KEY WORDS:** devem conter entre três e cinco termos para indexação. Os termos usados não devem constar no título. Cada **palavra-chave e key word** deve iniciar com letra maiúscula e ser seguida de ponto.

**INTRODUÇÃO:** deve ser compacta e objetiva contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa. As citações presentes na introdução devem ser empregadas para fundamentar a discussão dos resultados, criando, assim, uma contextualização entre o estudo da arte e a discussão dos resultados. Não deve conter mais de **550 palavras**.

**CITAÇÃO DE AUTORES NO TEXTO:** a NBR 10520/2002 estabelece as condições exigidas para a apresentação de citações em documentos técnico-científicos e acadêmicos.

Nas citações, quando o sobrenome do autor, a instituição responsável ou título estiver incluído na sentença, este se apresenta em letras maiúsculas/minúsculas, e quando estiverem entre parênteses, em letras maiúsculas.

**Ex:** Santos (2002) ou (SANTOS, 2002); com dois autores ou três autores, usar Pereira e Freitas (2002) ou (PEREIRA; FREITAS, 2002) e Cruz, Perota e Mendes (2000) ou (CRUZ; PEROTA; MENDES, 2000); com mais de três autores, usar Xavier *et al.* (1997) ou (XAVIER *et al.*, 1997).

**VÁRIOS AUTORES CITADOS SIMULTANEAMENTE:** havendo citações indiretas de diversos documentos de vários autores mencionados simultaneamente e que expressam a mesma idéia, separam-se os autores por ponto e vírgula, **em ordem alfabética**, independente do ano de publicação.

**Ex:** (FONSECA, 2007; PAIVA, 2005; SILVA, 2006).

**SIGLAS:** quando aparecem pela primeira vez no texto, deve-se colocar o nome por extenso, seguido da sigla entre parênteses.

**Ex:** De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) [...].

**TABELAS:** devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. Não usar linhas verticais. As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve

ocupar uma célula distinta. Usar espaço simples. Não usar negrito ou letra maiúscula no cabeçalho.

**FIGURAS:** gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de **Figura** sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte superior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows”. As figuras devem apresentar 8,2 cm de largura, não sendo superior a 17 cm. A fonte Times New Roman, corpo 10 e não usar negrito na identificação dos eixos. A Revista Ciência Agronômica reserva-se ao direito de não aceitar tabelas e/ou figuras com o papel na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. **Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após a sua primeira citação.**

**Obs.:** As figuras devem ser também enviadas em arquivos separados e com RESOLUÇÃO de no mínimo 500 dpi através do campo “Transferir Documentos Suplementares”.

**EQUAÇÕES:** devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. O padrão de tamanho deverá ser:

Inteiro = 12 pt

Subscrito/sobrescrito = 8 pt

Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt

Subsímbolo = 14 pt

### **ESTATÍSTICA:**

1. Caso tenha realizado análise de variância, apresentar o "F" e a sua significância;
2. Dados quantitativos devem ser tratados pela técnica de análise de regressão;
3. Apresentar a significância dos parâmetros da equação de regressão;
4. Dependendo do estudo (ex: função de produção), analisar os sinais associados aos parâmetros.
5. É requerido, no mínimo, quatro pontos para se efetuar o ajuste das equações de regressão.
6. Os coeficientes do modelo de regressão devem apresentar o seguinte formato:  
 $y = a + bx + cx^2 + \dots$ ;
7. O Grau de Liberdade do resíduo deve ser superior a 12.

**CONCLUSÕES:** quando escritas em mais de um parágrafo devem ser numeradas.

**AGRADECIMENTOS:** logo após as conclusões poderão vir os agradecimentos direcionados a pessoas ou instituições, em estilo sóbrio e claro, indicando as razões pelas quais os faz.

**REFERÊNCIAS:** são elaboradas conforme a ABNT NBR 6023/2002. Inicia-se com a palavra REFERÊNCIAS (escrita em caixa alta, em negrito e centralizada). Devem ser digitadas em fonte tamanho 12, espaço duplo e justificadas. **UM PERCENTUAL DE 60% DO TOTAL DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS.** Não são contabilizadas neste percentual de 60% referências de livros, teses, anais,... Com relação aos periódicos, é dispensada a informação do local de publicação, porém os títulos não devem ser abreviados. Recomenda-se um total de 20 a 30 referências.

**Alguns exemplos:**

**- Livro**

NEWMANN, A. L.; SNAPP, R. R. **Beef cattle**. 7. ed. New York: John Willey, 1977. 883 p.

**- Capítulo de livro**

MALAVOLTA, E.; DANTAS, J. P. Nutrição e adubação do milho. *In:* PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargil, 1987. cap. 13, p. 539-593.

**- Monografia/Dissertação/Tese**

EDVAN, R. L. **Ação do óleo essencial de alecrim pimenta na germinação do matapasto**. 2006. 18 f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

SILVA, M. N. da. **População de plantas e adubação de nitrogenada em algodoeiro herbáceo irrigado**. 2001. 52 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

**- Artigo de revista**

XAVIER, D. F.; CARVALHO, M. M.; BOTREL, M. A. Resposta de *Cratylia argentea* à aplicação em um solo ácido. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 1, p. 14-18, 1997.

ANDRADE, E. M. *et al.* Mapa de vulnerabilidade da bacia do Acaraú, Ceará, à qualidade das águas de irrigação, pelo emprego do GIS. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 3, p. 280-287, 2006.

**- Resumo de trabalho de congresso**

SOUZA, F. X.; MEDEIROS FILHO, S.; FREITAS, J. B. S. Germinação de sementes de cajazeira (*Spondias mombin* L.) com pré-embebição em água e hipoclorito de sódio. *In:* CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 11., 1999, Foz do Iguaçu. **Resumos...** Foz do Iguaçu: ABRATES, 1999. p. 158.

**- Trabalho publicado em anais de congresso**

BRAYNER, A. R. A.; MEDEIROS, C. B. Incorporação do tempo em SGBD orientado a objetos. *In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE BANCO DE DADOS*, 9., 1994, São Paulo.

**Anais...** São Paulo: USP, 1994, p. 16-29.

#### - Trabalho de congresso em formatos eletrônicos

SILVA, R. N.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. *In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE*, 4., 1996, Recife.

**Anais eletrônicos...** Recife: UFPE, 1996. Disponível em:

<<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais/educ/ce04.htm>>. Acesso em: 21 jan. 1997.

GUNCHO, M. R. A educação à distância e a biblioteca universitária. *In: SEMINÁRIO DE BIBLIOTECAS UNIVERSITÁRIAS*, 10., 1998, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Tec Treina, 1998. 1 CD-ROM.

**UNIDADES e SÍMBOLOS:** As unidades e símbolos do Sistema Internacional adotados pela Revista Ciência Agronômica.

Grandezas básicas	Unidades	Símbolos	Exemplos
Comprimento	metro	m	
Massa	quilograma	kg	
Tempo	segundo	s	
Corrente elétrica	amper	A	
Temperatura termodinâmica	Kelvin	K	
Quantidade de substância	mol	mol	
Unidades derivadas			
Velocidade	---	$m s^{-1}$	$343 m s^{-1}$
Aceleração	---	$m s^{-2}$	$9,8 m s^{-2}$
Volume	metro cúbico, litro	$m^3, L^*$	$1 m^3, 1 000 L^*$
Frequência	Hertz	Hz	10 Hz
Massa específica	---	$kg m^{-3}$	$1.000 kg m^{-3}$
Força	newton	N	15 N
Pressão	pascal	Pa	$1,013.10^5 Pa$
Energia	joule	J	4 J
Potência	watt	W	500 W
Calor específico	---	$J (kg ^\circ C)^{-1}$	$4186 J (kg ^\circ C)^{-1}$
Calor latente	---	$J kg^{-1}$	$2,26. 10^6 J kg^{-1}$
Carga elétrica	coulomb	C	1 C
Potencial elétrico	volt	V	25 V
Resistência elétrica	ohm	$\Omega$	29 $\Omega$
Intensidade de energia	Watts/metros quadrado	$W m^{-2}$	$1.372 W m^{-2}$
Concentração	mol/metro cúbico	$mol m^{-3}$	$500 mol m^{-3}$
Condutância elétrica	siemens	S	300 S
Condutividade elétrica	desiemens/metro	$dS m^{-1}$	$5 dS m^{-1}$
Temperatura	grau Celsius	$^\circ C$	$25 ^\circ C$
Ângulo	grau	$^\circ$	$30^\circ$

Números mencionados em seqüência devem ser separados por ponto e vírgula (;). Ex:

2,5; 4,8; 25,3.

#### **4. Lista de verificação - Revista Ciência Agronômica**

Visando a maior agilidade no processo de submissão de seu artigo, o Comitê Editorial da Revista Ciência Agronômica, elaborou uma lista de verificação para que o autor possa conferir toda a formatação do manuscrito de sua autoria, **ANTES** de submetê-lo para publicação. A lista foi elaborada de acordo com as normas da Revista Ciência Agronômica.

Respostas **NEGATIVAS** significam que seu artigo ainda deve ser adaptado às normas da revista e a submissão de tais artigos implicará na sua devolução e retardo na tramitação.

Respostas **POSITIVAS** significam que seu artigo está em concordância com as normas, implicando em maior rapidez na tramitação.

##### **A. Referente ao trabalho**

1. O trabalho é original?
2. O trabalho representa uma contribuição científica para a área de Ciências Agrárias?
3. O trabalho está sendo enviado com exclusividade para a Revista Ciência Agronômica?

##### **B. Referente à formatação**

4. O trabalho pronto para ser submetido online está omitindo os nomes dos autores na versão Word?
5. O trabalho contém no máximo 20 páginas, está no formato A4, digitado em espaço duplo, incluindo as referências; fonte Times New Roman tamanho 12, incluindo títulos e subtítulos?
6. As margens foram colocadas a 2,5 cm, a numeração de páginas foi colocada na margem superior, à direita e as linhas foram numeradas de forma contínua?
7. O recuo do parágrafo de 1 cm foi definido na formatação do parágrafo? Lembre-se que a revista não aceita recuo de parágrafo usando a tecla “TAB” ou a “barra de espaço”.
8. A estrutura do trabalho está de acordo com as normas, ou seja, segue a seguinte ordem: título, título em inglês, autores, resumo, palavras-chave, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências?
9. O título contém no máximo 15 palavras?
10. O resumo e o abstract apresentam no máximo 250 palavras?
11. As palavras-chave (key words) contém entre três e cinco termos, iniciam com letra maiúscula e são seguidas de ponto?
12. A introdução contém citações atuais que apresentam relação com o assunto abordado na pesquisa e apresenta no máximo 550 palavras?
13. As citações apresentadas na introdução foram empregadas para fundamentar a discussão dos resultados?

14. As citações estão de acordo com as normas da revista?
15. As tabelas e figuras estão formatadas de acordo com as normas da revista e estão inseridas logo em seguida à sua primeira citação? Lembre-se, não é permitido usar “enter” nas células que compõem a(s) tabela(s).
16. As tabelas estão no formato retrato?
17. As figuras apresentam boa qualidade visual?
18. As unidades e símbolos utilizados no seu trabalho se encontram dentro das normas do Sistema Internacional adotado pela Revista Ciência Agronômica?
19. Os números estão separados por ponto e vírgula? As unidades estão separadas do número por um espaço? Lembre-se, não existe espaço entre o número e o símbolo de %.
20. O seu trabalho apresenta entre 20 e 30 referências sendo 60% destas publicadas com menos de 10 anos em periódicos indexados?
21. Todas as referências estão citadas ao longo do texto?
22. Todas as referências citadas ao longo do texto estão corretamente descritas, conforme as normas da revista, e aparecem listadas?

### **C. Observações:**

1. Lembre-se que **SE** as normas da revista não forem seguidas rigorosamente, seu trabalho não irá tramitar. Portanto, é melhor retardar o envio por mais alguns dias e conferir todas as normas. A consulta de um trabalho já publicado na sua área pode lhe ajudar a sanar algumas dúvidas e pode servir como um modelo (acesse aos periódicos no site <http://www.ccarevista.ufc.br/busca>).

2. Caso suas respostas sejam todas **AFIRMATIVAS** seu trabalho será enviado com maior segurança. Caso tenha ainda respostas **NEGATIVAS**, seu trabalho irá retornar retardando o processo de tramitação.

**Lembre-se:** A partir da segunda devolução, por irregularidade normativa, principalmente em se tratando das referências, o mesmo terá a submissão cancelada e **não haverá devolução da taxa de submissão**. Portanto é muito importante que os autores verifiquem cuidadosamente as normas requeridas pela Revista Ciência Agronômica.

3. Procure **SEMPRE** acompanhar a situação de seu trabalho pela página da revista (<http://ccarevista.ufc.br>) no sistema online de gerenciamento de artigos.

4. Esta lista de verificação não substitui a revisão técnica da revista, a qual todos os artigos enviados serão submetidos.