



# FERTBIO 2012

A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola  
17 a 21 de Setembro - Centro de Convenções - Maceió/Alagoas

## Promoção do crescimento vegetal de plantas de milho inoculadas com bactérias diazotróficas em Roraima.

**Krisle da Silva<sup>(1)</sup>; Alexandre Cardoso Baraúna<sup>(2)</sup>; Ismaele Breckenfeld<sup>(3)</sup>; Cátia Aparecida Mosqueira<sup>(2)</sup>; Gilmaria Maria Duarte Pereira<sup>(4)</sup>; Jerri Édson Zilli<sup>(5)</sup>; Liamara Perin<sup>(6)</sup>.**

<sup>(1)</sup> Pesquisadora, Microbiologia do Solo; Embrapa Roraima, Rodovia BR-174, Km 8, Distrito Industrial, CEP 69301-970, Boa Vista-RR [krisle.silva@embrapa.br](mailto:krisle.silva@embrapa.br); <sup>(2)</sup> Estudante de Mestrado em Agronomia; POSAGRO UFRR, Campus Cauamé, BR 174, Km 12 - Monte Cristo, CEP 69304-000, Boa Vista-RR, [alexandre.barauna.bio@gmail.com](mailto:alexandre.barauna.bio@gmail.com); <sup>(3)</sup> Estudante de Graduação em Agronomia; FARES, Av. Presidente Juscelino Kubitschek, 300 Bairro Canarinho, CEP 69306-535, Boa Vista-RR, [ismaelebreckenfeld@hotmail.com](mailto:ismaelebreckenfeld@hotmail.com); <sup>(4)</sup> Professora; CBio, UFRR, Campus do Paricarana, Av. Ene Garcez 2413, CEP 69304-000, Boa Vista-RR, [gmdpereira@hotmail.com](mailto:gmdpereira@hotmail.com); <sup>(5)</sup> Pesquisador, Microbiologia do Solo, Embrapa Agrobiologia, Rodovia BR 465, Km 7, Seropédica-RJ, CEP: 23890-000, [zilli@cnpab.embrapa.br](mailto:zilli@cnpab.embrapa.br); <sup>(6)</sup> Professora Adjunta do Instituto Federal de Sergipe, Campus Nossa Senhora da Glória, SE, CEP.: 49680-000, [liaperin@yahoo.com.br](mailto:liaperin@yahoo.com.br).

**RESUMO** – As bactérias diazotróficas através da fixação biológica de nitrogênio podem promover o crescimento vegetal de plantas de milho. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de promoção de crescimento vegetal de bactérias diazotróficas previamente isoladas de plantas de milho cultivado em Roraima. Oito bactérias foram selecionadas, pois além de fixarem nitrogênio também eram capazes de solubilizar fosfato de cálcio e produzir ácido indol acético. Estas foram inoculadas em plantas de milho em experimento em vasos com solo estéril. Além das oito bactérias, foram incluídos três tratamentos controles. Um com a inoculação de *Azospirillum brasilense*; outro sem inoculação e com adição de nitrogênio mineral e outro sem inoculação e sem nitrogênio. O efeito da inoculação foi avaliado em duas cultivares de milhos, a variedade BR 106 e o híbrido BRS 1010. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 11, com quatro repetições. Foram avaliados o teor de clorofila na terceira folha recém-madura aos 21 e 39 dias após plantio, matéria seca da parte aérea, matéria seca das raízes e nitrogênio total da parte aérea. A inoculação das bactérias mostrou melhores resultados para o cultivar híbrido BRS 1010 em comparação com a variedade BR 106, principalmente com as bactérias do 345C (gênero *Pseudomonas*) e 112AB (gênero *Burkholderia*). Estes resultados indicam que as bactérias nativas de Roraima são capazes de promover o crescimento vegetal do milho.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L.; BR 106; BRS 1010; fixação biológica de nitrogênio.

**INTRODUÇÃO** - O milho (*Zea mays* L.) é uma das opções de cultivo no Estado de Roraima, sendo cultivado na safra de 2011 em cerca 6,5 mil hectares com rendimento médio de 2.000 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2012). Trata-se de um rendimento baixo, comparado à média nacional que é de 4.449 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2012) e também da capacidade de produção de milho, que pode

atingir mais de 12.000 kg ha<sup>-1</sup>. O Estado de Roraima possui na sua maioria solos de baixa fertilidade natural, sendo assim, os produtores encontram dificuldades na melhoria da produtividade, principalmente pela logística e alto custo dos insumos. Sendo o nitrogênio um dos nutrientes mais requeridos e o que mais limita o crescimento do milho, o desenvolvimento e emprego de tecnologias de baixo custo e impacto ambiental poderá ser uma alternativa para elevar a produtividade em Roraima através de uma agricultura sustentável. Além do alto valor dos adubos nitrogenados, boa parte do nitrogênio aplicado ao solo é perdida por volatilização ou lixiviação. Nesse contexto, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) pode ser uma alternativa para aumentar o suprimento de nitrogênio em plantas de milho.

A FBN é realizada por bactérias conhecidas como diazotróficas, que possui a enzima nitrogenase que é capaz de reduzir o N<sub>2</sub> atmosférico para a forma inorgânica combinada NH<sub>3</sub> tornando-se disponível para plantas. A FBN é um processo regulado pela necessidade do ambiente e das espécies fixadoras, pois, a enzima nitrogenase, responsável pela redução do N<sub>2</sub> é inativada, quando submetida à presença de amônio (Rudnik et al., 1997). Assim, em áreas degradadas, em solos e substratos pobres ou desprovidos de matéria orgânica, a FBN pode ser estimulada.

Assim, o presente estudo teve como objetivo a avaliar o crescimento vegetal de milho inoculado com diferentes bactérias diazotróficas obtidas em Roraima.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Origem das bactérias

Oito bactérias diazotróficas foram previamente selecionadas de acordo com sua capacidade de promoção do crescimento vegetal, isto é, além de fixar nitrogênio atmosférico, estas eram capazes de solubilizar fosfato de cálcio e/ou sintetizar ácido indol acético (Gomes, 2009; Perin et al., 2010) (Tabela 1). As bactérias foram isoladas do colmo e raízes de quatro cultivares de milho (os

híbridos BRS 1010 e BRS 3003, e as variedades BRS 4157 e BR 106) (Gomes, 2009). As plantas foram coletadas em áreas experimentais da Embrapa Roraima, no Campo Experimental Água Boa (CEAB), município de Boa Vista, representativo de área de cerrado (N 02° 15'00" e W 60° 39'54") e, no Campo Experimental Confiança (CEC), município do Cantá (N 02° 39'48" e W 60° 50' 15"), que compreende uma região de mata.

#### Capacidade de promoção de crescimento em plantas de milho

O experimento foi conduzido em Latossolo amarelo, coletado na profundidade de 0-20 cm no campo experimental do Água Boa da Embrapa Roraima, que corresponde a uma área de cerrado. Análises químicas e granulométricas do solo (EMBRAPA, 1997), realizadas antes da instalação do experimento, revelaram os seguintes resultados: pH em H<sub>2</sub>O 6,4; 1,39 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Ca<sup>2+</sup>; 0,42 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Mg<sup>2+</sup>; 0,06 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K<sup>+</sup>; 0,01 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Al<sup>3+</sup>; 1,91 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de H<sup>+</sup>+Al<sup>3+</sup>; 76,50 mg dm<sup>-3</sup> de P (Mehlich-1); 49,4% de saturação por bases; 7,8 g dm<sup>-3</sup> de matéria orgânica e teores de argila, areia e silte de 4, 2 e 94%, respectivamente.

O vasos contendo 1,5 kg solo receberam uma adubação anterior ao plantio com 70 mg de uréia (45% de N), 200 mg de super fosfato simples, 150 mg de cloreto de potássio, 1,5 g de CaCl<sub>2</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,7 mg de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, além de 5 ml de solução de micronutrientes contendo em g l<sup>-1</sup>: 0,8 de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 1,8 de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; 1,8 de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O; 1 CoSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 2,4 de MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O; 3,2 de ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O e 0,02 de Na<sub>2</sub>Mo<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O. Foram incluídos dois tratamentos controles, um negativo, onde não houve inoculação e nem aplicação de nitrogênio, um controle positivo que recebeu uma adubação de cobertura aos 21 dias após o plantio de 70 mg de uréia por vaso. Também foi incluída para a inoculação a estirpe tipo BR11001<sup>T</sup> de *Azospirillum brasilense*, totalizando 11 tratamentos. Os tratamentos foram avaliados em duas cultivares de milho, a variedade BR106 e o híbrido BRS 1010. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 (cultivares de milho) x 11 (tratamentos de inoculação), com quatro repetições. Foram avaliados o teor de clorofila na terceira folha recém madura aos 21 e 39 dias após plantio, matéria seca da parte aérea, matéria seca das raízes e nitrogênio total da parte aérea. Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando o programa SISVAR, versão 4.3 (Ferreira, 2008). Os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira leitura do teor de clorofila (aos 21 dias após o plantio) não foi verificada diferenças significativas entre os tratamentos, tanto na variedade BR 106 quanto no híbrido BRS 1010 (Tabela 2). No entanto, verificou-se que houve diferença entre as cultivares, o híbrido BRS 1010 apresentou valores superiores no teor de clorofila do que a variedade BR 106 para os tratamentos inoculados com a estirpe BR 11001 e as bactérias 112AB (gênero *Burkholderia*) e 319C (gênero *Pseudomonas*). Na segunda leitura (aos 39 dias após o plantio), verificou-se uma redução nos valores gerais do teor de clorofila, mas

também não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos, mas verificou-se efeito entre as cultivares para a estirpe BR 11001, que apresentou também média superior no híbrido BRS 1010.

Para matéria seca da parte aérea (MSPA) (Tabela 2), na variedade BR 106 verificou-se um efeito positivo da inoculação, pois exceto pela bactéria 319C (gênero *Pseudomonas*), os demais tratamentos foram significativamente diferentes do controle que não recebeu nitrogênio e sem inoculação. Já para o híbrido, apenas o tratamento nitrogenado e o tratamento que recebeu a inoculação com a BR 11001 foi superior ao controle sem nitrogênio e sem inoculação. Já para a matéria seca de raiz (MSR), não houve diferenças entre os tratamentos na variedade, mas para o híbrido, verificou-se massa superior nos tratamentos nitrogenado, BR 11001 e a bactéria 319C (gênero *Pseudomonas*). Já para o teor de N-total na parte aérea, verificou-se que não houve respostas positivas a inoculação na variedade BR 106, no entanto, para o híbrido BRS 1010, a inoculação com as bactérias BR 11001 (*Azospirillum brasilense*), 112AB (gênero *Burkholderia*) e 345C (gênero *Pseudomonas*) foram similares ao tratamento nitrogenado.

Quando comparados à média geral entre a variedade e o híbrido, é possível observar diferenças no teor de clorofila lida aos 21 dias após o plantio, sendo superior no híbrido BRS 1010 e também na MSPA aérea que foi superior na variedade BR 106 (Tabela 2). Para os demais parâmetros, MSR, segunda leitura de clorofila e N-total não foi verificada diferenças entre as cultivares.

A variedade BR 106 não apresentou respostas significativas à inoculação. Em estudo realizado em condições de campo no Estado de Roraima, com a inoculação de *H. seropediacae* em duas cultivares de milho, o híbrido BRS 1010 e a variedade BSR 4157 (Sol da Manhã), foi verificado um efeito significativo para aumento do rendimento de grão no híbrido devido à inoculação, enquanto que na variedade este efeito não foi observado (Zilli et al., 2007). Em estudo conduzido com 15 genótipos de milho, sendo 12 argentinos e três brasileiros, também foi verificado um efeito diferencial na resposta a inoculação, obtendo-se desde resposta positivas no incremento da produção de grão quanto resposta negativas devido à inoculação com *Azospirillum* spp. (García de Salomone e Dobereiner, 1996).

De modo geral a inoculação favoreceu o desenvolvimento vegetal comprado ao tratamento controle e este efeito foi observado principalmente no híbrido BRS 1010, inoculados com bactérias do gênero 345C (*Pseudomonas*) e 112AB (*Burkholderia*). Novos testes deverão ser realizados em condições de campo.

**CONCLUSÕES** - As bactérias diazotróficas nativas de Roraima são capazes de promover o crescimento vegetal de plantas de milho.

**AGRADECIMENTOS** - Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto MCT/CNPq 14/2009 Edital Universal - Faixa A, processo número 480057/2009-5.

## REFERÊNCIAS

- CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos**, Nono levantamento, junho 2012 / Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília: Conab, 2012.
- FERREIRA, D.F.. SISVAR: a program for statistical analysis and teaching. **Rev. Symposium**, 6: 36-41, 2008.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária; **Manual de Métodos de Análise de Solo**. Rio de Janeiro. RJ. 1997, 212p.
- GARCIA DE SALOMONE, I. E.; DÖBEREINER, J.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain-maize genotype associations as evaluated by <sup>15</sup>N isotope dilution technique. *Biol. Fert Soils*, 23: 249-256, 1996.
- GOMES, M. L. **Bactérias diazotróficas endofíticas em cultivares de milho em áreas de cerrado e de mata em Roraima**. Boa Vista, Universidade Federal de Roraima, 2009. 66p. (Dissertação de Mestrado).
- PERIN, L.; BARAÚNA, A. C.; PEREIRA, G. M. D.; FERNANDES JUNIOR, P. I.; ZILLI, J. E. Caracterização polifásica de bactérias endofíticas isoladas de plantas de milho. In: FERTBIO, 2010. **Anais...** Guarapari, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2010. CD-ROM
- RUDNIK, P.; MELETZUS, D.; GREEN, A.; HE, L.; KENNEDY, C. 1997. Regulation of nitrogen fixation by ammonium in diazotrophic species of proteobacteria. **Soil Biol. Biochem.**, 29: 831-841.
- ZILLI, J. E.; MARSON, L. C.; REIS, V. M., ALVES, G. C.; BALDANI, L. D.; CORDEIRO, A. C. **Contribuição da bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae* para o rendimento de grãos de arroz e milho em Roraima**. Boa Vista, Embrapa Roraima, 2007, n.6, 20p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

**Tabela 1** - Origem e características das bactérias utilizadas para experimento de promoção de crescimento em plantas de milho (Gomes, 2009; Perin et al., 2010).

Bactéria	Origem	Cultivar de origem	Características de promoção de crescimento			Similaridade BLAST
			<i>nifH</i>	AIA	Sol. Fosfato	
<b>112 AB</b>	Cerrado	BRS 1010	+	+	3.66/9.66	<i>Burkholderia</i> sp. (100%)
<b>117 AB</b>	Cerrado	BRS 1010	+	+++	4.66/14.00	<i>Acinetobacter</i> sp. (99%)
<b>212 AB</b>	Cerrado	BR 106	+	-	4.00/9.00	<i>Bacillus</i> sp. (100%)
<b>268 AB</b>	Cerrado	BR 4157	+	+	-	<i>Pseudomonas</i> sp. (100%)
<b>265 C</b>	Mata	BR 106	+	+++	-	<i>Enterobacter</i> sp. (100%)
<b>319 C</b>	Mata	BR 4157	+	+++	-	<i>Pseudomonas</i> sp. (100%)
<b>345 C</b>	Mata	BR 4157	+	+	-	<i>Pseudomonas</i> sp. (100%)
<b>456 C</b>	Mata	BR 4157	+	+	-	<i>Enterobacter</i> sp. (97%)

**Tabela 2** - Teores de clorofila, matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de raízes (MSR) e nitrogênio total (N-total) de cultivares de milho BR 106 e BRS 1010 inoculadas com bactérias diazotróficas endofíticas isoladas de Roraima e estirpe tipo BR 11001 (*Azospirillum brasilense*).

Tratamentos	Clorofila Leitura 1		MSPA		MSR		N-total	
	(21 dias)		(g planta <sup>-1</sup> )		(g planta <sup>-1</sup> )		(mg planta <sup>-1</sup> )	
	BR 106	BRS 1010	BR 106	BRS 1010	BR 106	BRS 1010	BR 106	BRS 1010
<b>Controle</b>	32.9 aA	34.7 aA	3.96 bA	3.60 bA	2.81 aA	2.77 bA	28.65 aA	24.51 bA
<b>Nitrogenado</b>	33.6 aA	37.0 aA	6.52 aA	5.68 aA	3.65 aA	3.44 aA	41.25 aA	43.73 aA
<b>BR 11001</b>	32.6 aB	38.3 aA	5.49 aA	5.77 aA	3.42 aA	3.70 aA	36.55 aA	45.20 aA
<b>112 AB</b>	33.9 aB	39.4 aA	5.25 aA	4.65 bA	3.48 aA	3.02 bA	34.91 aA	38.25 aA
<b>117 AB</b>	36.0 aA	37.8 aA	5.05 aA	4.50 bA	3.32 aA	3.13 bA	32.74 aA	33.93 bA
<b>212 AB</b>	35.9 aA	37.8 aA	5.11 aA	4.29 bA	3.30 aA	2.85 bA	35.60 aA	36.27 bA
<b>265 C</b>	36.4 aA	36.4 aA	5.84 aA	4.24 bB	3.55 aA	3.10 bA	40.96 aA	30.74 bB
<b>268 AB</b>	37.3 aA	36.3 aA	5.30 aA	4.40 bA	3.52 aA	3.24 bA	38.98 aA	32.30 bA
<b>319 C</b>	32.0 aB	38.7 aA	4.43 bA	4.85 bA	3.19 aA	3.77 aA	30.17 aA	34.04 bA
<b>345 C</b>	36.4 aA	39.1 aA	5.34 aA	4.57 bA	3.17 aA	3.11 bA	36.54 aA	37.68 aA
<b>456 C</b>	38.5 aA	34.6 aA	5.74 aA	4.59 bB	3.14 aA	3.43 aA	41.95 aA	35.52 bA
<b>Média</b>	35.0 B	37.3 A	5.28 A	4.65 B	3.32 A	3.23 A	36.21 A	35.65 A
<b>C.V (%)</b>	9.43		12.73		13.91		18.26	

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade.

Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas, na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade.