



## ESTADO NUTRICIONAL DO MILHO EM RESPOSTA À APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO E À INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*

Érica de Oliveira Araújo<sup>(1)</sup>, Fábio Martins Mercante <sup>(2)</sup>, Antonio Carlos Tadeu Vitorino<sup>(3)</sup>, Danieli Pieretti Nunes<sup>(1)</sup>, Leandro Ramão Paim<sup>(1)</sup>, Diego Augusto Espindola Mendes<sup>(4)</sup>

### Introdução

Dentre os nutrientes minerais, o nitrogênio (N) é um dos mais importantes e limitantes na produtividade do milho, sendo requerida a sua aplicação em grandes quantidades para suprir a demanda da cultura. Os custos econômicos e ambientais relacionados à fertilização nitrogenada têm estimulado a busca por alternativas que possam diminuir a utilização destes fertilizantes sem que haja diminuição da produção (DOTTO et al., 2010). Uma das possibilidades para viabilizar uma produção com menores custos sem prejudicar o ambiente é a utilização dos recursos biológicos do solo, com destaque para as bactérias diazotróficas. Esses microrganismos são considerados promotores do crescimento vegetal por possuírem a capacidade de fixação biológica de nitrogênio (HUERGO et al., 2008); produção de hormônios como auxinas, giberelinas e citocininas (CREUS et al., 2004; RADWAN et al., 2004); solubilização de fosfatos (RODRIGUEZ et al., 2004) e por atuarem como agente no controle biológico de patógenos (CORREA et al., 2008).

Dentre os microrganismos diazotróficos encontrados em associações com gramíneas, as espécies de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* constituem os grupos mais bem estudados atualmente. Assim, objetivou-se com o presente trabalho avaliar os teores

<sup>1</sup> Doutorando (a) em Agronomia, Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Rodovia Dourados/Itahum, km 12, Cidade Universitária, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. Caixa Postal 533.ericabb25@hotmail.com; danipiereti@gmail.com; leandro.r.paim@hotmail.com;

<sup>(2)</sup> Pesquisador da Embrapa Agropecuária Oeste, BR 163, km 253,6, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. fabio.mercante@cpao.embrapa.br;

<sup>(3)</sup> Professor da Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Rodovia Dourados/Itahum, km 12, Cidade Universitária, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. Caixa Postal 533. antoniovitorino@ufgd.edu.br.

<sup>(4)</sup> Graduando em Agronomia, Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Rodovia Dourados/Itahum, km 12, Cidade Universitária, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. Caixa Postal 533. diegobetfuer@hotmail.com.



nutricionais nas plantas de milho em função da aplicação de nitrogênio e da inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no campo experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados-MS, de março a agosto de 2012. As coordenadas geográficas são 22° 14' S e 54° 9' W, com altitude média de 450 metros. O clima é do tipo Cwa, segundo a classificação de Köppen. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distroférico, de textura muito argilosa (SANTOS et al., 2006).

Os resultados da análise química do solo, na profundidade de 0-20 cm, antes da instalação do experimento, resultaram nos seguintes valores: pH (CaCl<sub>2</sub>) 4,5; M.O. 31,18 g dm<sup>-3</sup>; C: 18,13 g dm<sup>-3</sup>; P (melich): 22,07 mg dm<sup>-3</sup>; K: 6,0 mmolc dm<sup>-3</sup>; Ca: 35,4 mmolc dm<sup>-3</sup>; Mg: 8,7 mmolc dm<sup>-3</sup>; Al: 4,8 mmolc dm<sup>-3</sup>; H+Al: 62,1 mmolc dm<sup>-3</sup>; SB: 50,1 mmolc dm<sup>-3</sup>; CTC: 112,2 mmolc dm<sup>-3</sup>, saturação por bases 44,65%. A correção do solo e a adubação de base foram realizadas considerando-se os resultados da análise do solo. A área foi irrigada após a implantação da cultura e em períodos de maior déficit hídrico.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com nove tratamentos e seis repetições, sendo: 1) controle sem N e sem inoculação; 2) inoculação com *A. brasilense* e sem N; 3) inoculação com *H. seropedicae* e sem N; 4) 30 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio; 5) *A. brasilense* +30 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio; 6) *H. seropedicae* +30 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio; 7) 30 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio + 90 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura; 8) *A. brasilense* + 30 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio + 90 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura; 9) *H. seropedicae* + 30 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio + 90 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura.

Foram utilizadas sementes do híbrido simples P3646H, sendo as mesmas previamente inoculadas com o produto comercial, contendo uma combinação de duas estirpes de *A. brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) em inoculante com formulação líquida e o inoculante contendo a estirpe Z-94 de *H. seropedicae*, em veículo à base de turfa, produzido na Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ. A dose aplicada foi de 150 mL para cada 50 kg de sementes de milho para o inoculante com formulação líquida, e de 250 g para cada 10 kg de sementes de milho do inoculante com veículo à base de turfa.



A semeadura foi realizada manualmente, com o auxílio de “matraca”, colocando-se duas sementes por cova, deixando-se após o desbaste seis plantas por metro linear. Cada unidade experimental foi composta por 5 linhas de 5 metros de comprimento, espaçadas em 0,90 m entre linhas. A adubação nitrogenada foi aplicada na dose de 30 kg ha<sup>-1</sup> de N no sulco de plantio, na forma de ureia (45%), e 90 kg ha<sup>-1</sup> de N, parcelados em duas vezes de 45 kg ha<sup>-1</sup>, em cobertura, na área total da parcela nos estádios de desenvolvimento V4 e V7, respectivamente.

No período de florescimento (aparecimento da inflorescência feminina “cabelo”) da cultura, foram efetuadas amostragens foliares, conforme metodologia proposta por Malavolta et al. (1997), a fim de determinar o teor de nutrientes no tecido foliar das plantas. Para tanto, coletou-se o terço médio com nervura da folha oposta e abaixo da inserção da espiga principal, num total de 10 folhas por unidade experimental. Todo o material vegetal coletado foi lavado em água corrente, solução de HCl a 0,1 mol L<sup>-1</sup> e água deionizada. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e secos em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 65°C, por 72 horas, e posteriormente moídas. As amostras moídas foram submetidas à digestão sulfúrica e digestão nitro-perclórica, seguida das determinações dos teores foliares de N, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, Fe e Mn, utilizando a metodologia descrita em Silva (2009). Na colheita, também foram determinados os teores de nutrientes nos grãos de milho.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR.

## **Resultados e Discussão**

Os resultados evidenciaram efeito significativo da adubação nitrogenada e da inoculação com *A. brasilense* e *H. seropedicae* sobre os teores de N, P, K e Zn nas folhas de plantas de milho (Tabela 1).



**Tabela 1.** Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* sobre o teor de nutrientes ( $\text{g kg}^{-1}$  de macronutrientes e  $\text{mg g}^{-1}$  de micronutrientes) nas folhas de plantas de milho, no florescimento. Dourados, MS, 2012.

Tratamentos	N						P						K						Ca						Mg						S						Zn						Cu						Fe						Mn																																																																																													
	$(\text{g kg}^{-1})$												$(\text{mg g}^{-1})$																																																																																																																																							
1. Controle (sem inoculação e sem N)	32,20	b	3,23	bc	17,98	e	1,90	0,56	1,34	13,34	ab	8,99	296,67	40,67	40,44	ab	3,48	bc	21,20	cde	2,02	0,65	1,15	13,20	ab	9,24	292,34	42,19	39,69	ab	3,92	ab	20,71	de	2,00	0,61	1,29	13,03	ab	9,27	255,87	39,09	39,94	ab	4,02	ab	25,91	ab	2,10	0,64	1,40	12,85	ab	9,77	315,41	49,65	40,69	ab	3,52	bc	24,51	bcd	2,21	0,62	1,33	11,09	b	8,60	289,84	46,41	37,69	ab	4,24	a	25,75	ab	2,17	0,71	1,26	12,31	ab	8,57	302,62	45,93	45,43	ab	4,21	a	26,24	ab	1,97	0,64	1,14	13,45	ab	9,64	266,28	53,05	49,18	a	3,91	ab	25,33	abc	1,67	0,53	1,34	14,24	a	8,98	263,43	47,87	42,94	ab	4,20	a	29,72	a	1,89	0,63	1,44	15,14	a	9,40	285,45	47,98	Teste F	2,19*	6,64*	13,34*	2,11 <sup>ns</sup>	1,18 <sup>ns</sup>	1,90 <sup>ns</sup>	2,86*	0,78 <sup>ns</sup>	1,50 <sup>ns</sup>	1,79 <sup>ns</sup>	CV (%)	19,28	9,04	9,87	13,83	18,89	13,67	12,46	12,66	13,82	17,88

\* e <sup>ns</sup> – significativo a 5% de probabilidade e não significativo, respectivamente. Médias seguidas da mesma letra nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. CV – coeficiente de variação.



O teor de N nas folhas variou de 32,20 g kg<sup>-1</sup> no tratamento controle, a 49,18 g kg<sup>-1</sup> no tratamento com *A. brasilense* + 120 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura, evidenciando que a inoculação em combinação com 30 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio + 90 kg ha<sup>-1</sup> de N na cobertura, aumentou o teor de N nas folhas de milho na ordem de 52,73% (Tabela 3). O teor de P, K e Zn nas folhas, diferentemente do teor de N, foi superior no tratamento inoculado com *H. seropedicae* + 120 kg ha<sup>-1</sup> de N. Houve um incremento de 30%, 64,29% e 13,49% nos teores de P, K e Zn em relação ao controle não inoculado e não adubado, respectivamente (Tabela 3). Contudo, observa-se que mesmo não havendo diferença estatística, os teores de N, P, K e Zn nas folhas de milho, nos tratamentos inoculados e acrescidos de 30 kg ha<sup>-1</sup> de N, foram superiores ao controle e similares à inoculação com *A. brasilense* e *H. seropedicae* acrescidos de 120 kg ha<sup>-1</sup> de N. Este fato permite afirmar que a inoculação com essas bactérias, acrescida de 30 kg N ha<sup>-1</sup>, seja suficiente para elevar os teores de N, P, K e Zn nas folhas de milho e que a inoculação melhora a utilização do N fertilizante, levando os cereais a acumular de nutrientes semelhantes aos altos níveis de fertilização.

Dobbelaere et al. (2001), observaram aumento nos teores de N, P e K nas folhas de milho ao trabalharem com bactérias do gênero *Azospirillum*. Hungria et al. (2010) observaram que plantas inoculadas com *Azospirillum* spp. apresentaram maior conteúdo de N, P, Zn e Cu nas folhas de milho.

A maior absorção de nutrientes como N, P, K e Zn pelas raízes podem ocorrer em razão da produção de substâncias promotoras do crescimento pela bactéria, ao aumento no número de raízes e pêlos radiculares, o que permite melhor exploração do solo e aumenta a capacidade da planta em absorver nutrientes (CREUS et al., 2004), ou ainda, podem ser atribuídos à fixação biológica de N pelas bactérias.

## Conclusões

Os teores de N, P, K e Zn nas folhas de milho foram afetados positivamente pela adubação nitrogenada e pela inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*.

Os teores de N, K, Ca e Mg nos grãos de milho aumentaram com a inoculação de *A. brasilense* e *H. seropedicae* sem adição de N.



## Referências

- CORREA, O. S.; ROMERO, A. M.; SORIA, M. A.; DE ESTRADA, M. *Azospirillum brasilense* plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina*. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 87-95.
- 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**, Ottawa, v. 82, n. 2, p. 273-281, Feb. 2004.
- DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; DUTTO, P.; LABANDERA-GONZALEZ, C.; CABALLERO-MELLADO, J.; AGUIRRE, J. F.; KAPULNIK, Y.; BRENER, S.; BURDMAN, S.; KADOURI, D.; SARIG, S.; OKON, Y. Response of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant and Physiology**, Victoria, v. 28, n. 9, p. 871-879, 2001.
- DOTTO, A. P.; LANA, M. C.; STEINER, F.; FRANDOLOSO, J. F. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, n. 3, p. 376-382, 2010.
- HUERGO, L. F.; MONTEIRO, R. A.; BONATTO, A. C.; RIGO, L. U.; STEFFENS, M. B. R.; CRUZ, L. M.; CHUBATSU, L. S.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.). *Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina*. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 17-35.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, 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 and Soil**, Dordrecht, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.
- RADWAN, T. E. S. E. D.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 39, n. 10, p. 987-994, out. 2004.
- RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum spp.* **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 91, n. 11, p. 552-555, Nov. 2004.
- SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; OLIVEIRA, J. B. de; COELHO, M. R.; LUMBRETERAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. (Ed.). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.
- SILVA, F. C. da (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 627 p.