



INOCULAÇÃO DE *Herbaspirillum seropedicae* NO DESENVOLVIMENTO DE GENÓTIPOS DE MILHO SOB DIFERENTES NÍVEIS DE NITROGÊNIO

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

Introdução

Em razão da extensa área ocupada pelos cereais, aproximadamente cinco vezes a das leguminosas, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) associada a essas culturas torna-se de extrema importância, mesmo que apenas parte de suas necessidades de N possa ser suprida pela FBN (SALA et al., 2007).

Existem variações entre genótipos de milho na resposta à adubação nitrogenada, assim como, interações entre o milho e bactérias diazotróficas são dependentes dos genótipos da planta e dos microrganismos envolvidos nessas associações (GARCIA DE SALOMONE; DOBEREINER, 1996). Dentre os microrganismos diazotróficos encontrados em associações com cereais e gramíneas, as espécies de *Herbaspirillum* constituem um dos grupos mais bem estudados atualmente.

Estudos que envolvem a espécie *Herbaspirillum seropedicae* são interessantes, pois, dentre as características dessa espécie, destaca-se a capacidade de colonizar o interior e a parte aérea dos tecidos vegetais (BALDANI et al., 1997).

No Brasil, poucos estudos têm focado as interações entre genótipos de milho, adubação nitrogenada e bactérias diazotróficas. Neste sentido, objetivou com o presente trabalho verificar o comportamento de três híbridos de milho à inoculação de

¹ 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;

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

⁽³⁾ 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.

⁽⁴⁾ 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.



Herbaspirillum seropedicae sob diferentes níveis de nitrogênio, em ensaio conduzido em condições controladas de casa de vegetação.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação, na Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, MS, cujas coordenadas geográficas são latitude 22°12' S, longitude 54°56' W e altitude de 452 m. O solo utilizado neste estudo foi classificado como Latossolo Vermelho distroférrico de textura muito argilosa (EMBRAPA, 2006). Os resultados da análise química do solo antes da instalação do experimento resultaram nos seguintes valores: pH (CaCl₂) 4,15; P: 26 mg dm⁻³; K: 5,0 mmol_c dm⁻³; Ca: 9,0 mmol_c dm⁻³; Mg 2,0 mmol_c dm⁻³; Al: 3,3 mmol_c dm⁻³; H+Al: 41,6 mmol_c dm⁻³; SB: 115,1 mmol_c dm⁻³; CTC: 531,1 mmol_c dm⁻³, saturação por bases 21,7%. A correção do solo e a adubação de base foram realizadas considerando-se os resultados da análise do solo.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 (híbridos de milho) x 2 (plantas inoculadas e não inoculadas) x 2 (regimes de nitrogênio), com quatro repetições. As unidades experimentais foram compostas por vasos plásticos com capacidade de 10 dm⁻³, preenchidos com solo seco ao ar, passado em peneira de 4 mm de abertura. A umidade dos vasos foi controlada diariamente, através da sua pesagem, sempre visando manter o solo com 60% da capacidade de campo. A irrigação foi feita com água deionizada.

A adubação nitrogenada foi realizada na dose 80 kg ha⁻¹ de N, na forma de ureia (45%), aplicados em duas vezes de 40 kg ha⁻¹. A primeira aplicação de N foi realizada na semeadura e a segunda, em cobertura, aos 15 dias após a emergência das plantas.

Foram utilizadas sementes de milho do híbrido simples P3646H (Pioneer), híbrido triplo BRS3035 (Embrapa) e híbrido duplo Maximus (Syngenta), sendo as mesmas previamente inoculadas com a estirpe Z-94 de *Herbaspirillum seropedicae* (concentração de células no inoculante na faixa de 10⁹) na formulação à base de turfa, cedidos pela Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ. A dose aplicada foi de 250 g do inoculante turfoso



para cada 10 kg de sementes de milho. As sementes foram postas a germinar diretamente nos vasos, sendo que aos oito dias após a emergência, realizou-se o desbaste deixando apenas uma planta em cada unidade experimental.

Aos 35 dias após a emergência foram determinados a altura de plantas e o diâmetro do colmo. Posteriormente as plantas foram coletadas e divididas em raiz e parte aérea. Todo o material vegetal coletado foi lavado em solução de detergente a 3 mL L^{-1} , água corrente, solução de HCl a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e água deionizada, respectivamente. O comprimento de raiz foi determinado com uma régua graduada e o volume de raiz pelo método da proveta, no qual as raízes foram submersas em proveta graduada com volume de água destilada conhecido, sendo volume determinado pela diferença entre o volume inicial e final do recipiente. Em seguida, 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. Após a secagem do material vegetal, procederam-se a pesagem e determinação da massa seca da parte aérea e raiz.

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

As doses de N influenciaram todas as variáveis estudadas (Tabela 1). Plantas que receberam a aplicação de N mostraram-se superiores quanto a altura de plantas, diâmetro do colmo, volume de raiz, comprimento de raiz, massa seca da parte aérea e massa seca de raiz em relação ao controle. Esses resultados indicam respostas positivas no crescimento do milho promovido pela adubação nitrogenada, a mesma tendência tem sido observado em outros trabalhos (ARAÚJO et al., 2004; CARMO et al., 2012).



Tabela 1. Resumo da análise de variância para altura de plantas (ALT), diâmetro do colmo (DIA), volume de raiz (VR), comprimento de raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de três híbridos de milho submetidos a diferentes níveis de nitrogênio e inoculados com *Herbaspirillum seropedicae*. Dourados, MS (2013).

Fonte de variação	GL	Quadrado médio					
		ALT	DIA	VR	CR	MSPA	MSR
Híbrido (H)	2	83,01*	7,30*	885,89*	34,39	51,30*	3,94
Nitrogênio (N)	1	485,14*	53,93*	7600,33*	143,52*	224,42*	41,45*
Inoculação (I)	1	0,14	7,39	5292,00*	150,52*	33,41*	12,19
H*N	2	30,54	0,47	294,64	23,39	7,23	0,48
H*I	2	7,21	11,84	192,56	18,89	2,55	12,53
N*I	1	1,54	3,43	0,33	63,02	4,30	3,49
H*N*I	2	47,09	1,93	143,39	141,89	0,77	0,72
Resíduo	36	11,16	2,08	84,50	15,32	3,33	5,01
CV (%)		6,39	8,91	12,41	6,58	24,07	9,18

* – significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Efeito da aplicação de doses de N sobre a altura de plantas (ALT), diâmetro do colmo (DIA), volume de raiz (VR), comprimento de raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de plantas de milho cultivadas em casa de vegetação e colhidas aos 35 dias após o plantio. Dourados, MS (2013).

Nitrogênio (kg ha ⁻¹)	ALT (cm)	DIA (mm)	VR (cm ³ /planta)	CR (cm)	MSPA (g)	MSR
0	49,10 b	15,14 b	61,50 b	57,75 b	5,43 b	23,47 b
80	55,45 a	17,26 a	86,66 a	61,20 a	9,75 a	25,33 a

Médias seguidas da mesma letra na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os híbridos de milho apresentaram resposta significativa ($p \leq 0,05$) para altura de plantas, diâmetro do colmo, volume de raiz e massa seca da parte aérea (Tabela 1). Para altura de plantas, diâmetro do colmo, volume de raiz e massa seca da parte aérea o híbrido BRS 3035 foi estatisticamente superior ($p \leq 0,05$) aos híbridos P3646H e Maximus (Tabela 3).



Tabela 3. Comportamento de três híbridos de milho em relação à altura de planta (ALT), diâmetro do colmo (DIA), volume de raiz (VR) e massa seca da parte aérea (MSPA). As plantas foram cultivadas em casa de vegetação e colhidas aos 35 dias após o plantio. Dourados, MS (2013).

Híbrido	ALT (cm)	DIA (mm)	VR (cm ³ /planta)	MSPA (g)
Maximus	50,40 b	15,62 b	67,68 b	5,91 b
P3646H	51,62 b	16,04 ab	72,31 b	7,38 b
BRS 3035	54,81 a	16,95 a	82,25 a	9,47 a

Médias seguidas da mesma letra na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A inoculação com a estirpe Z-94 *H. seropedicae* influenciou o volume de raiz, comprimento de raiz e massa seca da parte aérea (Tabela 1). Plantas inoculadas com esta estirpe apresentaram incremento na ordem de 33,02% no volume de raiz e de 61,52% no comprimento de raiz em relação ao controle não inoculado (Tabela 4). Esse efeito se deve, provavelmente, à produção de auxinas pelas bactérias, que estimula o crescimento das raízes secundárias, aumentando assim a área específica de absorção de água e nutrientes pelas plantas (RADWAN et al., 2004). A produção de massa seca de plantas de milho aumentou na ordem de 24,74% em relação ao controle sem inoculação (Tabela 4). Ferreira et al. (2011) e Guimarães et al. (2010) observaram efeito significativo da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* em plantas de arroz sobre o acúmulo de massa seca da parte aérea.

Tabela 4. Efeito da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sobre o volume de raiz (VR), comprimento de raiz (CR) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de milho cultivadas em casa de vegetação e colhidas aos 35 dias após o plantio. Dourados, MS (2013).

Inoculação	VR (cm ³ /planta)	CR (cm)	MSPA (g)
Sem	63,58 b	57,70 b	6,75 b
Com	84,58 a	61,25 a	8,42 a
Aumento (%)	33,02	61,52	24,74

Médias seguidas da mesma letra na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Conclusões

O híbrido BRS 3035 apresentou comportamento diferenciado para a maioria das variáveis analisadas, produzindo maior quantidade de massa seca de parte aérea, plantas com maior altura, diâmetro do colmo e volume de raízes.

A inoculação com a estirpe Z-94 de *Herbaspirillum seropedicae* promoveu aumento no volume de raízes, comprimento de raízes e massa seca da parte aérea.

Referências

- ARAÚJO, L.A.N.; FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P. Adubação nitrogenada na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n.8, p.771-777. 2004.
- BALDANI, J.I.; CARUSO, L.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in FBN with non-legume plants. **Soil Biology Biochem.**, v.29, n.5, p.911-922, 1997.
- CARMO, M.S.; CRUZ, S.C.S.; SOUZA, E.J.; CAMPOS, L.F.C.; MACHADO, C.G. Doses e fontes de nitrogênio no desenvolvimento e produtividade da cultura de milho doce (*Zea mays* convar. *saccharatavar. rugosa*) **Bioscience Journal Uberlândia**, v. 28, Supplement 1, p. 223-231, 2012.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa/DPI, 2006. 306p.
- FERREIRA, J.S.; GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, V.L.D. Produção de grãos de arroz em função as inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.7, n.13; p. 826-833, 2011.
- GARCIA DE SALOMONE, I.E.; DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology and Fertility of Soils**, v.21, n.3, p.193-196, 1996.
- GUIMARÃES, S.L., CAMPOS, D.T.S., BALDANI, V.L.D., JACOB-NETO, J. Bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada em cultivares de arroz. **Revista Caatinga**. Mossoró, v.23, n.4, p.32-39, 2010.
- 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**, v.39, n.10, p.987-994, 2004.
- SALA, V.M.R.; CARDOSO, E.J.B.N.; FREITAS, J.G.; SILVEIRA, A.P.D. Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em condições de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.6, p.833-842, 2007.