

Resposta do Milho à Inoculação Combinada com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* Associada à Adubação Nitrogenada

Janaina Dartora¹, Vandeir Francisco Guimarães¹, Deniele Marini¹, Edilaine Della Valentina Gonçalves¹, Gerson Sander¹, Daiana Raquel Pauletti¹ e Luis Claudio Offemann¹

¹Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, PR.

janaina_dartora@hotmail.com, vandeirfg@yahoo.com.br, denielemarini@yahoo.com.br, edilainevalentina@gmail.com, gerson_sander@hotmail.com; daiana_pauletti@hotmail.com, l.offemann@hotmail.com

RESUMO – Bactérias diazotróficas possuem a capacidade de fixar nitrogênio (N) e promover incrementos no desenvolvimento da planta. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da adubação nitrogenada e da inoculação das sementes com bactérias diazotróficas na cultura do milho. O experimento foi conduzido na safra verão 2010/2011 com o híbrido 30R50 no município de Marechal Cândido Rondon – Paraná. O delineamento experimental empregado foi de blocos casualizados, com quatro repetições e os tratamentos arranjados em esquema fatorial 5x4, sendo o primeiro fator a inoculação das sementes com bactérias: testemunha, *Azospirillum brasilense* (Ab-V5), *Herbaspirillum seropedicae* (SmR1) e a combinação Ab-V5+SmR1; e o segundo fator as doses de adubação nitrogenada: 0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹. Foram avaliados altura de planta, diâmetro de colmo, área foliar, massa seca de parte aérea e nitrogênio foliar. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo programa SISVAR e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A inoculação combinada das estirpes proporcionou os melhores resultados e a aplicação de doses crescentes de N em cobertura proporcionou incremento no crescimento em altura e diâmetro do milho até a dose de 160 kg ha⁻¹ de N.

Palavras-Chave: área foliar; fixação biológica de nitrogênio; *Azospirillum brasilense*.

Introdução

O milho é o principal cereal produzido no Brasil e representa papel importante no agronegócio brasileiro, com acréscimos contínuos da área plantada e da produtividade.

A inoculação de bactérias do gênero *Azospirillum* em gramíneas tem promovido incrementos significativos no desenvolvimento radicular das plantas, resultando em melhor aproveitamento e utilização de nutrientes e água e, conseqüentemente, em melhor desenvolvimento das plantas (BALDANI et al., 1997). Segundo Okon & Vanderleyden (1997) pelo menos parte ou talvez muitos desses efeitos de *Azospirillum spp.* nas plantas, podem ser atribuídos à produção, pela bactéria, de substâncias promotoras de crescimento, entre elas auxinas, giberilinas e citocininas, e não somente a fixação de nitrogênio.

A espécie *Herbaspirillum seropedicae* constitui bactérias diazotróficas endofíticas de plantas, capaz de colonizar raízes, caules e folhas e com baixa taxa de sobrevivência no solo (JAMES & OLIVARES, 1998). Há também relatos da inoculação desta bactéria em

gramíneas, tendo sido comprovado o fornecimento de nitrogênio às mesmas através da fixação biológica de N (DÖBEREINER et al., 1993)

Considerando que bactérias diazotróficas possuem a capacidade de fixar N e promover incrementos no desenvolvimento da planta, o que tornaria possível reduzir a utilização de fertilizantes nitrogenados na cultura do milho sem afetar a produtividade, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da adubação nitrogenada e da inoculação das sementes com bactérias diazotróficas na cultura do milho.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido a campo na safra verão 2010/2011, em sistema de plantio direto, em Marechal Cândido Rondon - PR. O município está localizado a uma longitude de 54° 22' W, latitude 24° 46' S e altitude média de 420 metros.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso em esquema fatorial 4 x 5, com quatro blocos. O primeiro fator refere-se à inoculação das sementes com bactérias: testemunha sem inoculação, *Azospirillum brasilense* (Ab-V5), *Herbaspirillum seropedicae* (SmR1) e a combinação Ab-V5+SmR1; o segundo fator se refere às doses de adubação nitrogenada: 0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹. Foi utilizado o híbrido simples 30R50.

Cada parcela constou de 6 linhas (0,7 m entre linhas) com 5 m de comprimento. A adubação com fósforo e potássio foi realizada no sulco de semeadura, baseando-se nas análises químicas do solo, através de semeadura mecanizada. A adubação nitrogenada foi baseada nos tratamentos, sendo aplicado no sulco de plantio 30 Kg ha⁻¹, e o restante da dose em cobertura, entre os estádios V4 e V6, exceto para o tratamento sem nitrogênio. Os demais tratamentos culturais foram realizados conforme as necessidades da cultura.

No estágio do florescimento foram efetuadas amostragens foliares conforme metodologia proposta por Malavolta et al. (1997), a fim de determinar o teor de N no tecido foliar. Para tanto, coletou-se o terço médio da folha oposta e abaixo da inserção da espiga principal, num total de 10 folhas por unidade experimental.

Para avaliação biométrica das plantas, foram coletadas duas plantas por parcela experimental no estágio reprodutivo da cultura (R3). Ainda a campo foram mensuradas a altura de plantas e o diâmetro de colmo de duas plantas por parcela, com auxílio de régua graduada e paquímetro digital, respectivamente. Posteriormente, as plantas foram coletadas e levadas ao laboratório, sendo então seccionadas em diferentes partes para determinação da massa seca de parte aérea. Para a quantificação da área foliar utilizou-se o método de amostragens proposto por Benincasa (2003).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias relativas aos tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Para as variáveis com significância estatística (teste F) em função das doses de N foi utilizada análise de regressão, com a utilização do teste t de Student.

Resultados e Discussão

Não houve interação entre inoculação e adubação nitrogenada para as características avaliadas neste estudo. Na Tabela 1 são apresentados os resultados para as variáveis biométricas e N foliar em função da inoculação com estirpes de *A. brasilense* e *H. seropedicae* de forma isolada e combinada.

Houve influência da inoculação sobre diâmetro de colmo, sendo a combinação das estirpes superior em relação à inoculação isolada de Ab-V5, porém semelhante à testemunha e à inoculação isolada de SmR1. Verona et al. (2010) em estudo sobre os efeitos da aplicação de reguladores vegetais via semente associados a inoculação de *Azospirillum* spp. na cultura do milho verificaram diâmetro de caule superior no tratamento submetido à inoculação em relação ao tratamento testemunha.

Quanto à altura de planta não houve efeito da inoculação, sendo observado valor médio de 246,6 cm em função da inoculação. Campos et al. (2000) e Cavallet et al. (2000) em diferentes trabalhos testando a eficiência agrônômica do inoculante comercial “Graminante” a base de *Azospirillum* spp. e aplicações de N em semeadura e cobertura na cultura do milho, também não verificaram efeito da inoculação sobre a altura de plantas.

A inoculação influenciou a massa seca de parte aérea, observando-se que a combinação das estirpes proporcionou média superior à inoculação de Ab-V5 e semelhante aos tratamentos testemunha e inoculação isolada de SmR1. Embora sem diferir estatisticamente, a inoculação combinada das estirpes proporcionou incremento de 12% na massa seca de parte aérea em relação à testemunha. Verona et al. (2010) também verificaram efeito positivo da inoculação sobre o incremento da massa seca de parte aérea do milho, inclusive sob condição de estresse hídrico.

Quanto à área foliar não foi verificado efeito significativo do fator inoculação, sendo verificado valor médio para esta variável de 55,4 dm² por planta em função da inoculação.

Segundo Okon & Labandera-Gonzalez (1994) o efeito de promoção do crescimento no desenvolvimento da planta proporcionado pelas bactérias diazotróficas é notável, pois estes microrganismos estimulam a densidade e o comprimento de pelos radiculares, assim como a taxa de aparecimento de raízes laterais, resultando em aumento na superfície de contato

radicular, o que potencializa o aproveitamento e utilização de água e nutrientes minerais disponíveis no solo (BALDANI et al., 1997).

Para o N foliar não foi verificada influência do fator inoculação obtendo-se valor médio de 31,3 g kg⁻¹ de N, valor que está dentro da faixa de suficiência (28 a 35 g kg⁻¹ de N) considerada por Malavolta et al. (1997) como adequada para o desenvolvimento da cultura do milho. Dotto et al. (2010) também não constataram influência da inoculação com *H. seropedicae* sobre o teor de N nas folhas, embora tenham obtido valor médio de 26,8 g kg⁻¹ de N nas folhas do milho, pouco abaixo da faixa de suficiência.

Quanto ao efeito da adubação nitrogenada sobre as variáveis biométricas e N foliar, houve efeito significativo para diâmetro de colmo, altura de planta, massa seca de parte aérea e área foliar.

A adubação nitrogenada influenciou a variável diâmetro de colmo (Figura 1a), sendo os dados ajustados significativamente ($p < 0,01$) a uma equação linear crescente, cujo modelo permitiu verificar incremento de 0,009 mm no diâmetro de colmo para cada quilo de N adicionado ao solo.

Quanto à altura de planta foi verificado ajuste linear crescente ($p < 0,01$) dos dados em função da adubação nitrogenada (Figura 1b) sendo observado incremento de 0,05 cm para cada quilo de N adicionado ao solo. Para Marschner (1995) a aplicação de doses elevadas de N nos estádios iniciais de desenvolvimento dos cereais infere no aumento da produção de fitohormônios promotores do crescimento e desenvolvimento das plantas, substâncias responsáveis pelos processos de divisão e expansão celular (giberilinas, auxinas e citocininas), que provocam o alongamento do caule proporcionando incremento na altura de plantas.

Quanto à massa seca de parte aérea e área foliar, foi constatado efeito significativo da adubação nitrogenada, porém não foi possível ajustar os dados de ambas as variáveis a uma equação, sendo observados valores médios de 11.270 kg ha⁻¹ e 55,4 dm² por planta em função da adubação nitrogenada para massa seca de parte aérea e área foliar, respectivamente.

Quanto ao N foliar não foi observada influência do fator adubação nitrogenada, com valor médio de 31,3 g kg⁻¹ de N em função das doses de N. Dotto et al. (2010) não observaram efeito da aplicação de N em cobertura sobre o conteúdo foliar de N.

Conclusões

A inoculação com bactérias diazotróficas estimula o desenvolvimento da cultura do milho, destacando-se a inoculação combinada das estirpes de *A. brasilense* (Ab-V5) e *H.*

seropedicae (SmR1) que proporcionaram os melhores resultados para diâmetro do colmo e massa seca de parte aérea. A aplicação de doses crescentes de N em cobertura proporciona incremento no crescimento em altura e diâmetro do milho até a dose de 160 kg ha⁻¹ de N.

Agradecimentos

À Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná, afiliada à Secretaria de Estado da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior – SETI; CAPES/PNPD e ao CNPq/INCT pelo suporte financeiro.

Literatura Citada

BALDANI, J.I.; CARUSO, L.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. *Soil Biology and Biochemistry*, v.29, p.911-922, 1997.

BENINCASA, M.M.P. *Análise de Crescimento de Plantas: Noções Básicas*. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 42p.

CAMPOS B.C. de, GNATTA, S.T.V. Avaliação do inoculante “Graminante” na cultura de milho. *Ciência Rural*, v.30, p.713-715, 2000.

CAVALLET, L.E., PESSOA, A.C. dos S., HELMICH, J.J. HELMICH, P.R.; OST, C.F. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.4, p.129-132, 2000.

DÖBEREINER J.; REIS, V. M.; PAULA, M. A.; OLIVARES, F. L. Endophytic diazotrophs in sugar cane, tuber plants and cereals. *New Horizons in Nitrogen Fixation*, Kluwer Academic, p.671–676, 1993.

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*, v.5, p.376-382, 2010.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319p.

MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plants*. San Diego: Academic Press, 1995. 889p.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. *Applied and Environmental Microbiology*, New York, v.63, p.366-370, 1997.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. Agronomic application of *Azospirillum*: An evaluation of 20 years worldwide field incubation. *Soil Biology and Biochemistry*, v.26, p.1591-1601, 1994.

VERONA, D.A.; DUARTE JUNIOR, J.B.; ROSSOL, C.D.; ZOZ, T.; COSTA, A.C.T. da. Tratamento de Sementes de Milho com Zeavit[®], Stimulate[®] e Inoculação com *Azospirillum* sp. Resumos expandidos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MILHO E SORGO, 28, 2010, Goiânia.

Tabela 1. Diâmetro de colmo (DCO), altura de planta (AP), massa seca de parte aérea (MSPA), área foliar (AF) e teor de nitrogênio foliar (NF) de plantas de milho, híbrido 30R50, em função da inoculação isolada e combinada das estirpes de *A. brasilense* (Ab-V5) e *H. seropedicae* (SmR1). Marechal Cândido Rondon (PR), 2010/2011

BACTÉRIA	DCO mm	AP cm	MSPA kg ha ⁻¹	AF dm ² /planta	NF g kg ⁻¹
Testemunha	26,6 ab	246,9	10753,2 ab	53,4	30,4
Ab-V5	25,6 b	247,1	10527,8 b	54,7	32,3
SmR1	26,6 ab	246,3	11764,6 ab	56,4	30,0
Ab-V5+SmR1	27,6 a	246,2	12032,9 a	57,0	32,6
Média	26,6	246,6	11269,6	55,4	31,3
C.V.**	6,33	3,16	15,27	25,09	12,0

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $p < 0,05$.

**Coeficiente de variação (%).

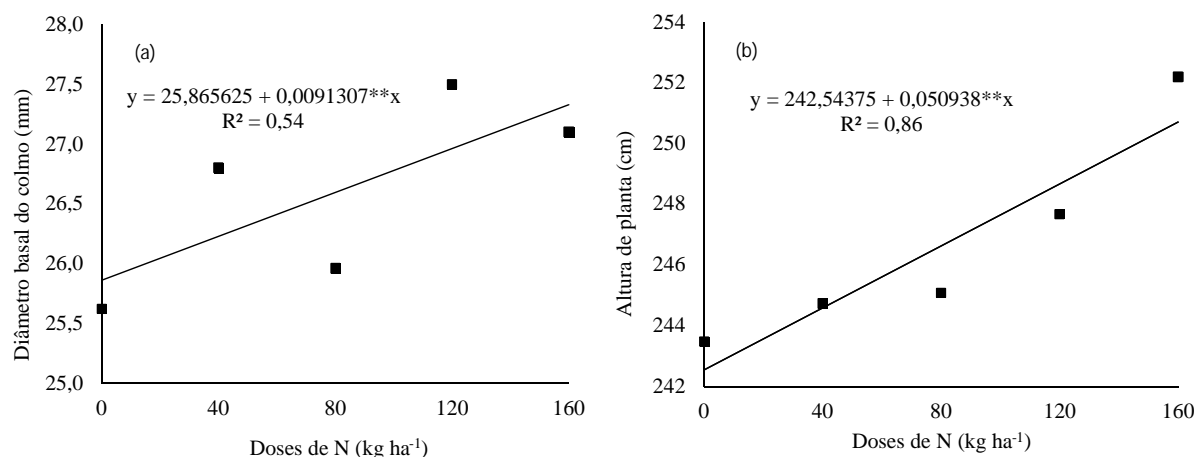


Figura 1. Diâmetro de colmo (a) e altura (b) de plantas de milho, híbrido 30R50, em função da adubação nitrogenada. **: Significativo pelo teste T de Student ($p \bullet 0,01$).