

Efeito da Inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* no Desenvolvimento Vegetativo dos Genótipos de Milho Superprecoces BRS Caatingueiro e BRS 4103

Effect of *Herbaspirillum seropedicae* Inoculation on the Vegetative Development of the Very Early Maize Genotypes BRS Caatingueiro e BRS 4103

Aleksandro Ferreira da Silva¹, Aline Araújo Sampaio², Kelly Alexandra Souza Menezes³, Verônica Massena Reis⁴, Carlos Alberto Tuão Gava⁵, Lindete Míria Vieira Martins⁶, Paulo Ivan Fernandes Junior⁷

Resumo

A cultura do milho, por sua grande importância econômica, requer a utilização de insumos, principalmente a adubação nitrogenada em grandes quantidades. Para tornar a cultura mais sustentável, vem-se ampliando os estudos sobre a fixação biológica do nitrogênio (N), por

¹Estudante de Agronomia, DTCS/UNEB, estagiário da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

²Engenheira-agrônoma, aluna do curso de pós-graduação em Horticultura Irrigada, DTCS/UNEB, Juazeiro, BA.

³Bióloga, aluna do curso de pós-graduação em Horticultura Irrigada, DTCS/UNEB, Juazeiro, BA.

⁴Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Ciência do Solo, pesquisadora da Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

⁵Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Proteção de Plantas, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

⁶Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Ciência do Solo, professora Adjunta, DTCS/UNEB, Juazeiro, BA.

⁷Biólogo, D.Sc. em Ciência do Solo, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, paulo.ivan@embrapa.br.

meio da inoculação de bactérias diazotróficas associativas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* (ZAE94 - BR 11417), sobre o crescimento dos genótipos de milho BRS Caatingueiro e BRS 4103. Entre os meses de fevereiro e março de 2012, foi realizado um ensaio em condições de casa de vegetação utilizando-se como substrato solos do horizonte superficial de um Vertissolo e um Neossolo Flúvico da região. Os tratamentos consistiram nas duas variedades inoculadas com a estirpe BR 11417, na aplicação de N mineral e na testemunha não adubada e não inoculada. Foram avaliados altura da parte aérea, diâmetro do colmo, além do índice relativo de clorofila. Após a colheita das plantas, avaliou-se a massa da parte aérea seca e massa da raiz seca. Os resultados indicaram que as plantas inoculadas com a estirpe BR 11417 apresentaram desenvolvimento semelhante ao observado em plantas que receberam o N mineral, indicando a efetividade destas estirpes para as variedades estudadas.

Palavras-chave: fixação biológica de nitrogênio, *Zea mays* L., biotecnologia.

Introdução

O milho (*Zea mays* L.), um dos principais cereais cultivados no mundo, tem grande importância social, econômica e cultural no Brasil, principalmente na região Nordeste. A produção de milho no Brasil, em 2011, alcançou cerca de 55,7 milhões de toneladas nas duas primeiras safras (IBGE, 2012), tendo a produção crescido a cada ano. A variedade de milho BRS Caatingueiro – ciclo superprecoce – é indicada para a agricultura familiar. Essa variedade apresenta potencial para adaptabilidade a estresses ambientais. Variedades com essa característica são indicadas para regiões como o Semiárido nordestino. Além disso, a superprecocidade permite à variedade completar o seu ciclo no curto período chuvoso da região semiárida (CARVALHO et al., 2004).

Para a cultura do milho alcançar a produtividade satisfatória, são necessários, aproximadamente, 90 kg de N.ha⁻¹ na região semiárida. O alto custo desse insumo, bem como os riscos de poluição ambiental decorrentes da adubação nitrogenada, como emissão de óxido nitroso, potente gás do efeito estufa, incentivam a procura por alternativas aos fertilizantes nitrogenados. Nesse contexto, a utilização de bactérias diazotróficas pode ser uma estratégia promissora (ALVES, 2007; DOTTO et al., 2010).

De acordo com Roesch et al. (2007), a inoculação da cultura com bactérias diazotróficas é uma alternativa sustentável para o aumento da produção, manejo do solo e qualidade ambiental. Entre as bactérias diazotróficas, uma das espécies mais estudadas é *Herbaspirillum seropedicae*, pois foi a primeira desse gênero descrita, isolada de raízes de milho, sorgo e arroz (BALDANI et al., 1986). Alves (2007) verificou que a inoculação de estirpes de *Herbaspirillum* resultou em aumentos significativos de matéria seca, de produção de grãos e contribuiu com até 34% do N absorvido pelo milho. Além da fixação biológica do nitrogênio (FBN), esses microorganismos também possuem mecanismos adicionais de promoção de crescimento vegetal (ROESCH et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a inoculação de *H. seropedicae* sobre o desenvolvimento dos genótipos de milho superprecoce BRS Caatingueiro e BRS 4103.

Material e Métodos

Para a implantação do experimento, foram coletadas amostras do horizonte superficial – 0 m a 0,20 m – de um Vertissolo no Campo Experimental de Mandacaru, Juazeiro, BA e um Neossolo Flúvico no Campo Experimental da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Juazeiro, BA. Os solos foram destorroados, peneirados e acondicionados em vasos com capacidade para 3 kg. Uma amostra de terra fina seca ao ar de cada solo foi encaminhada para análise de fertilidade no Laboratório de Análise de Solos e Plantas da Embrapa Semiárido.

A estirpe BR 11417 de *H. seropedicae* foi obtida junto à coleção de culturas de bactérias diazotróficas da Embrapa Agrobiologia. A bactéria foi crescida em meio JNFb sólido e as colônias puras foram inoculadas em meio JNFb líquido (DÖBEREINER et al., 1995) e incubadas a 28 °C sob agitação constante – 150 rpm – por 4 dias em agitador orbital.

As sementes foram desinfestadas superficialmente com etanol 70% – 1 minuto –, seguido de lavagem com hipoclorito de sódio 2,5% – 5 minutos – e dez lavagens sucessivas com água destilada esterilizada. Após o processo de desinfestação, essas foram semeadas em vasos plásticos com capacidade de 3 kg de solo. A inoculação procedeu-se no plantio com uma alíquota de 2 mL de caldo de cultivo por semente. Nos tratamentos nitrogenados, a aplicação de N em dose

única, equivalente a 100 kg de N.ha⁻¹, ocorreu aos 10 dias após a germinação.

Utilizou-se o esquema fatorial 2 x 2 x 3, em delineamento experimental de blocos ao acaso com quatro repetições, sendo os tratamentos constituídos pela combinação entre as duas variedades de milho – BRS Caatingueiro e BRS 4103 –, dois solos – Vertissolo e Neossolo Flúvico – e três fontes de N, sendo elas: 1) inoculação com *H. seropedicae*; 2) aplicação de N, e 3) sem aplicação de N e sem inoculação – testemunha absoluta.

As variáveis analisadas foram: altura da parte aérea, índice relativo de clorofila aos 25 e aos 40 dias após germinação e massa da parte aérea seca. Para a determinação da massa da parte aérea seca, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa de circulação forçada a 65 °C até atingir massa constante. Os dados foram submetidos à análise de variância, empregando-se o sistema de análise estatística Sisvar. Para a comparação das médias dos tratamentos, utilizou-se o teste Scott-Knott a 10% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 1). A variável altura da parte aérea para a variedade BRS Caatingueiro apresentou médias superiores a 100 cm, sendo a maior média obtida em Neossolo Fúlvico com aplicação de N. Essa variável, entretanto, não apresentou diferenças significativas entre a variedade BRS 4103 com aplicação de N no Vertissolo e no Neossolo Fúlvico e a variedade BRS Caatingueiro no Vertissolo na presença da inoculação de *H. seropedicae* e com aplicação de N.

Tabela 1. Massa da parte aérea seca, índice relativo de clorofila e altura de plantas dos genótipos de milho superprecoce BRS Caatingueiro e BRS 4103 inoculados com *H. seropedicae* ou suplementados com N mineral.

Genótipo	Tratamento	Massa da parte aérea seca (g)	Índice relativo de clorofila aos 25 dias	Índice relativo de clorofila aos 40 dias	Altura das plantas (cm)
Vertissolo					
Caatingueiro	BRS 11417	6,9 b	23,3 b	18,5 b	20,9 b
	nitrogênio	12,3 a	34,4 a	34,3 a	34,3 a
	testemunha	5,5 b	20,1 b	17,2 b	18,6 b
BRS 4103	BRS 11417	5,5 b	22,8 c	18,7 c	20,7 c
	nitrogênio	15,1 a	37,0 a	36,7 a	36,9 a
	testemunha	6,0 b	23,7 c	18,2 c	20,9 c
Neossolo Flúvico					
Caatingueiro	BRS 11417	9,4 b	28,9 b	19,6 b	24,3 b
	nitrogênio	15,9 a	38,9 a	32,4 a	35,7 a
	testemunha	6,5 c	25,5 b	20,2 b	22,8 b
	BRS 11417	7,4 c	30,8 b	23,5 b	27,2 b
	nitrogênio	13,3 a	39,5 a	37,5 a	38,5 a
	testemunha	6,0 c	26,1 b	22,2 b	24,2 b

Caat = BRS Caatingueiro, 4103 = BRS 4103. Médias seguidas pela mesma letra, em uma mesma variedade e solo, não diferem pelo teste Scott-Knott a 10% de probabilidade.

Em relação à massa da parte aérea seca, foi possível observar que a inoculação da bactéria promoveu o crescimento de ambas as variedades de milho estudadas, pois apresentaram médias de 7,4 g para a variedade BR 4103 e 9,40 g para BRS Caatingueiro em Neossolo Flúvico. *H. seropedicae* é uma estirpe bacteriana que, além de fixar o N atmosférico, apresenta mecanismos adicionais de promoção de crescimento como a produção de reguladores de crescimento vegetal e a supressão de alguns patógenos (ALVES, 2007).

Apesar de não ter apresentado diferenças estatísticas entre os tratamentos inoculadas com a estirpe e a testemunha absoluta, os valores absolutos dos índices relativos de clorofila indicam que a inoculação com *H. seropedicae* é capaz de melhorar a nutrição nitrogenada das plantas, pois os valores de índice relativo de clorofila foram maiores para as plantas. Em condições de campo, a inoculação dessa estirpe tem demonstrado resultado em plantas com excelente estado nutricional, quando são aplicadas doses de N aquém do recomendado (ALVES, 2007; REIS et al., 2009).

Esses resultados demonstram que a estirpe é capaz de suplementar o N demandado pela planta, podendo, assim, reduzir a dose de fertilizante nitrogenado aplicado. Demonstram, ainda, que a eficácia da associação entre gramíneas e bactérias associativas é menor do que a apresentada na associação entre rizóbios e leguminosas e plantas sem nenhum suprimento de N podem apresentar-se mal nutridas, conforme observado nos dados do índice relativo de clorofila (Tabela 1).

Conclusões

As duas variedades estudadas apresentam respostas quando submetidas à inoculação com *H. seropedicae*.

A inoculação induziu o crescimento da parte aérea das variedades estudadas nos dois tipos de solo da região semiárida.

Agradecimentos

À Embrapa Semiárido, pelo apoio às atividades de pesquisa.

Referências

- ALVES, G. C. **Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia* em genótipos de milho**. 2007. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; SELDIN, L.; DÖBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov. sp. nov. a root-associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading v. 36, n. 1, p. 86-93, 1986.
- CARVALHO, H. W. L.; SANTOS, M. X.; SILVA, A. A. G.; CARDOSO, M. J.; SANTOS, D. M.; TABOSA, J. N.; MICHEREFF FILHO, M.; LIRA, M. A.; CAVALCANTE, M. H. B.; SOUZA, E. M. S.; SAMPAIO, G. V.; BRITO, A. R. M. B.; DOURADO, V. V.; TAVARES, J. A.; NASCIMENTO NETO, J. G.; NASCIMENTO, M. M. A.; TAVARES FILHO, J. J.; ANDRADE JÚNIOR, A. S.; CARVALHO, B. C. L. **Caatingueiro**: uma variedade de milho para o Semi-Árido Nordeste. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2004. 8 p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Comunicado Técnico, 29).

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; Itaguaí: EMBRAPA-CNPAB, 1995. 60 p.

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.

IBGE. **Estatística da produção agrícola**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/e_statistica/pesquisas/pesquisa_resultados.php?indicador=1&id_pesquisa=126>. Acesso em: 13 jun.2012.

REIS, V. M.; ALVES, G. C.; MARRIEL, I. E.; REIS JÚNIOR, F. B.; ZILLI, J. E. **Recomendação de inoculante para cultura do milho utilizando a bactéria *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe BR11417**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2009. 3 p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico, 119).

ROESCH, L. F. W.; PASSAGLIA, L. M. P.; BENTO, F. M.; TRIPLETT, E. W.; CAMARGO, F. A. O. Diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas associadas a plantas de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 31, p. 1.367-1.380, 2007.