

## **EFEITO DA INOCULAÇÃO COM *Herbaspirillum seropedicae* SOBRE A PRODUTIVIDADE DO MILHO NOS PERÍODOS DE SAFRA E SAFRINHA**

André Alves de Castro Lopes<sup>1</sup>, Fábio Bueno dos Reis Junior<sup>1</sup>, Iêda de Carvalho Mendes<sup>1</sup>, Gabriela Cavalcanti Alves<sup>2</sup>, Ivanildo Evódio Marriel<sup>3</sup>, Veronica Massena Reis<sup>3</sup> (<sup>1</sup>Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. e-mail: fabio@cpac.embrapa.br; <sup>2</sup>Embrapa Agrobiologia, Rodovia BR 465, km 7, 23890-000 Seropédica, RJ; <sup>3</sup>Embrapa Milho e Sorgo, Rodovia MG 424, Km 45, Caixa Postal 285, 35701-970 Sete Lagoas, MG)

**Termos para Indexação:** *Zea mays*, fixação biológica de nitrogênio, promoção de crescimento vegetal.

### **Introdução**

O milho é um dos cultivos mais importantes do continente americano. Apresenta-se como o mais valioso dos cereais de grãos pelo enorme potencial para ser usado na alimentação humana e na produção animal e pela grande quantidade de subprodutos que podem ser obtidos a partir dos grãos, destacando-se o etanol destinado para uso como combustível, principalmente nos Estados Unidos.

De acordo com Sabata & Mason (1992) o nitrogênio assume grande importância na cultura, por sua atuação decisiva no metabolismo, principalmente na síntese de proteínas, sendo fundamental tanto para o incremento da produção de grãos, como para a elevação do teor protéico destes. É o nutriente que mais onera a cultura e os fertilizantes nitrogenados são considerados como uma importante fonte de risco de poluição ambiental dos sistemas agrícolas.

Dessa forma, existe um grande interesse em práticas alternativas que visem à redução na aplicação de fertilizantes nitrogenados na cultura ou mesmo a melhoria da absorção destes. Segundo Reis (2007) a exploração da fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN), realizada por um grupo restrito de bactérias denominadas diazotróficas, tem grande potencial para se tornar uma dessas alternativas para a produção de milho.

A busca pela utilização de bactérias diazotróficas associadas a gramíneas tem se intensificado e outras funções importantes foram atribuídas a estas, como a produção de hormônios do tipo auxinas e giberilinas, que favorecem o crescimento vegetal, principalmente das raízes, podendo maximizar a absorção de nutrientes e água (Dobbelaere et al., 1999; Lambrecht et al., 2000).

O potencial de ganho de N via FBN depende da cultura e da variedade plantada. Em geral, as plantas da família *Poaceae* (antiga *Gramineae*) são capazes de se associar com diversas espécies de bactérias diazotróficas que colonizam desde as raízes até as folhas, na região da rizosfera até o interior do tecido vegetal. Neste segundo caso, as bactérias são chamadas endofíticas e acredita-se que estas sejam as principais responsáveis pelo ganho de N através da FBN observado em diversas culturas (Döbereiner et al., 1995). Examinando-se a literatura, observa-se que o número de trabalhos que investigaram a inoculação de *Azospirillum* em condições de campo diminuiu nos últimos 5 anos. O mesmo não pode se dizer quanto à descoberta de novas bactérias promotoras de crescimento, como a *Herbaspirillum seropedicae*.

Levando em consideração a importância da fixação biológica de nitrogênio e o estímulo ao uso de insumos biológicos avaliou-se, nesse trabalho, os efeitos da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sobre a produtividade da cultura do milho, em cultivos no sistema de plantio direto nos períodos de safra (2006/2007) e safrinha (2007).

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido em condições de campo, sob plantio direto, na área experimental da Embrapa Cerrados, em Planaltina-DF. O solo foi classificado como sendo um Latossolo Vermelho apresentando as seguintes características químicas: pH (H<sub>2</sub>O) = 5,68; P disponível (Mehlich 1) = 12,35 mg.dm<sup>-3</sup>; K = 0,30 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>+2</sup> = 1,81 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>+</sup> = 0,40 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; Al = 0,01 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; H<sup>+</sup> + Al<sup>+3</sup> = 4,37 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>. A adubação corretiva foi feita de acordo com a análise do solo, sendo aplicados P, K, Ca, Mg e micronutrientes.

Foram avaliados os seguintes tratamentos: (1) sem N e sem inoculação (controle); (2) aplicação de 40 kg N ha<sup>-1</sup> na forma de uréia; (3) aplicação de 80 kg N ha<sup>-1</sup> na forma de uréia; (4) inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* estirpe ZAE94 (BR 11417); (5) inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* estirpe ZAE94 (BR 11417) + aplicação de 40 kg N ha<sup>-1</sup> na forma de uréia. Esses cinco tratamentos foram aplicados ao milho Híbrido BRS 1030 e a Variedade BR 106, em delineamento experimental de blocos ao acaso com quatro repetições.

O plantio no período da safra (estação das chuvas) foi realizado em 05/12/06 e no período da safrinha (estação seca) em 15/06/07. Para a inoculação foi utilizado veículo turfoso com uma população de *Herbaspirillum seropedicae* estirpe ZAE94 (BR 11417) estabelecida em torno de 10<sup>8</sup> cels g<sup>-1</sup> de

inoculante. Foram utilizados 2 kg de inoculante para cada 50 kg de sementes. Nos tratamentos com adubação nitrogenada, a aplicação de uréia foi realizada trinta dias após a germinação das plantas.

Nos dias 05/05/07 e 15/12/2007 realizaram-se as colheitas manuais das espigas nos experimentos de safra e safrinha, respectivamente. Como área útil (15 m<sup>2</sup>) foram utilizadas as três linhas centrais de cada parcela. Retirou-se a palha de cada espiga e posteriormente todas foram debulhadas para determinação dos dados de produção.

Os dados de produtividade, da safra e safrinha, foram analisados separadamente por meio de análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Duncan a 5% utilizando-se o programa MSTAT-C (Michigan State University), versão 1989.

## **Resultados e Discussão**

No experimento conduzido na safra as plantas responderam a adubação nitrogenada, mostrando incremento significativo no rendimento de grãos quando foi aplicado nitrogênio fertilizante na forma de uréia, com os tratamentos que receberam 80 kg N ha<sup>-1</sup> apresentando maior rendimento em comparação aos demais tratamentos (Tabela 1). Segundo Coelho (2006) resultados de experimentos conduzidos no Brasil, sob diversas condições de solo, clima e sistemas de cultivo, mostram resposta generalizada do milho à adubação nitrogenada. Em geral, 70 a 90% dos ensaios de adubação com milho, realizados a campo no Brasil, apresentaram respostas à aplicação de nitrogênio.

Resposta positiva a inoculação, em comparação com a testemunha, foi observada apenas quando a variedade BR 106 foi inoculada, com um incremento na produtividade de aproximadamente 3,6 sacas de grãos por hectare (218kg). Entretanto a resposta do híbrido BRS 1030 a inoculação seguiu caminho inverso, resultando em prejuízo a produtividade. Essa diferença entre o comportamento de diferentes genótipos de milho diante da inoculação é conhecida. É fato que as interações entre o milho e bactérias diazotróficas e/ou promotoras de crescimento são dependentes tanto dos genótipos da planta, quanto dos microrganismos envolvidos nessas associações (Garcia de Salomone & Döbereiner, 1996). Para a variedade BR 106 a inoculação combinada com a aplicação de uma dose de 40 kg de N ha<sup>-1</sup> não apresentou efeito sobre o rendimento do milho em comparação ao tratamento que recebeu apenas os 40 kg de N ha<sup>-1</sup>. Já em relação ao milho híbrido, mais uma vez, a inoculação prejudicou a produtividade da cultura.

**Tabela 1.** Rendimento de grãos e incremento na produtividade de grãos de milho, Híbrido BRS 1030 e Variedade BR 106, em resposta a inoculação e diferentes doses de adubação nitrogenada aplicadas trinta dias após o plantio no período de safra.

Tratamento	Rendimento de Grãos (kg ha <sup>-1</sup> )	Incremento (kg ha <sup>-1</sup> )
<b>Híbrido BRS 1030</b>		
1 – Testemunha	7941 b	0
2 - 40 kg ha <sup>-1</sup> de N	8337 ab	+ 396 (Ref Trat 1)
3 – 80 kg ha <sup>-1</sup> de N	8627 a	+ 686 (Ref Trat 1)
4 - Inoculação com <i>H. seropedicae</i>	7247 c	- 694 (Ref Trat 1)
5 - 40 kg ha <sup>-1</sup> de N + Inoculação	8016 ab	- 321(Ref Trat 2)
CV%	4,76	
<b>Variedade BR 106</b>		
1 –Testemunha	6838 c	0
2 - 40 kg ha <sup>-1</sup> de N	7654 b	+ 816 (Ref Trat 1)
3 - 80 kg ha <sup>-1</sup> de N	8508 a	+ 1670 (Ref Trat 1)
4 - Inoculação com <i>H. seropedicae</i>	7056 c	+ 218 (Ref Trat 1)
5 - 40 kg ha <sup>-1</sup> de N + Inoculação	7675 b	+ 21(Ref Trat 2)
CV %	4,67	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

Quando o mesmo experimento foi conduzido na safrinha, as respostas a adubação nitrogenada continuaram sendo expressivas, com os tratamentos que receberam 80kg N ha<sup>-1</sup> apresentando maior rendimento em comparação aos demais tratamentos (Tabela 2). No entanto, foram observadas respostas positivas e mais consistentes a inoculação. Apesar dessas diferenças não terem sido estatisticamente significativas, plantas inoculadas produziram 444 (Híbrido) e 540 (Variedade) kg grãos a mais por hectare quando comparadas as plantas não inoculadas. No caso, em que a inoculação foi combinada com a aplicação de uma dose de 40 kg de N ha<sup>-1</sup> houve um incremento de 863 kg ha<sup>-1</sup> na produtividade do milho híbrido ( $p < 0,05\%$ ) e de 349 kg ha<sup>-1</sup> na produtividade da variedade, comparando-se com as plantas que receberam apenas os 40 kg de N ha<sup>-1</sup>, sem inoculação.

A resposta das plantas a inoculação na safrinha, dentre outros prováveis fatores, pode ser creditada a extração do nitrogênio do solo promovida pelo cultivo do milho na safra. Como esse N não foi repostado, a disponibilidade desse nutriente no solo foi reduzida, o que teria estimulado a associação entre as plantas e as bactérias diazotróficas. A interação positiva entre bactérias diazotróficas e o milho tem sido

demonstrada por vários autores e embora ainda não se constitua em prática agrícola consolidada, levantamentos de diversos experimentos conduzidos em vários países mostraram que a inoculação resultou, na maioria dos casos, em aumento de matéria seca, de produção de grãos e de acúmulo de N nas plantas inoculadas. Estes resultados foram observados principalmente quando envolveram genótipos não melhorados em presença de baixa disponibilidade de N (Okon & Vanderleyden, 1997). No México, a experiência com a utilização de inoculante para gramíneas também mostrou que os maiores efeitos foram observados principalmente em locais onde o uso de fertilizante foi menor, em solos arenosos e com a utilização de cultivares domésticos (Reis, 2007).

**Tabela 2.** Rendimento de grãos e incremento na produtividade de grãos de milho, Híbrido BRS 1030 e Variedade BR 106, em resposta a inoculação e diferentes doses de adubação nitrogenada aplicada trinta dias após o plantio no período de safrinha.

Tratamento	Rendimento de Grãos (kg ha <sup>-1</sup> )	Incremento (kg ha <sup>-1</sup> )
<b>Híbrido BRS 1030</b>		
1 – Testemunha	3684 d	0
2 - 40 kg ha <sup>-1</sup> de N	4844 c	+ 1160 (Ref Trat 1)
3 - 80 kg ha <sup>-1</sup> de N	6580 a	+ 2896 (Ref Trat 1)
4 - Inoculação com <i>H. seropedicae</i>	4128 d	+ 444 (Ref Trat 1)
5 - 40 kg ha <sup>-1</sup> de N + Inoculação	5707 b	+ 863 (Ref Trat 2)
CV%	8,40	
<b>Variedade BR 106</b>		
1 – Testemunha	3785 c	0
2 - 40 kg ha <sup>-1</sup> de N	4910 b	+ 1125 (Ref Trat 1)
3 - 80 kg ha <sup>-1</sup> de N	6236 a	+ 2451 (Ref Trat 1)
4 - Inoculação com <i>H. seropedicae</i>	4325 c	+ 540 (Ref trat 1)
5 - 40 kg ha <sup>-1</sup> de N + Inoculação	5259 b	+ 349 (Ref Trat 2)
CV %	8,90	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

Novos ensaios com o mesmo desenho experimental estão sendo conduzidos em diferentes áreas para confirmar os dados obtidos nesse estudo e aumentar o conhecimento sobre os efeitos da inoculação do milho com *Herbaspirillum seropedicae*, que é bastante carente de informações, principalmente, oriundas de avaliações feitas a campo.

## Conclusões

- 1) No cultivo da safra a variedade BR 106 e o híbrido BRS 1030 apresentaram comportamentos diferentes em resposta a inoculação com *H. seropedicae*.
- 2) Respostas positivas a inoculação foram mais evidentes na safrinha em relação a safra.

## Referências bibliográficas

- COELHO, A.M. **Nutrição e adubação do milho**. Circular Técnica, Embrapa Milho e Sorgo, n° 78, 2006, 10p.
- DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; BROEK, A.V. & VANDERLEYDEN, J. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. **Plant & Soil**, v.212, p.155-164, 1999.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; REIS, V.M. Endophytic occurrence of diazotrophic bacteria in non-leguminous crops. In: FENDRIK, I.; DEL GALLO, M.; VANDERLEYDEN, J.; DE ZAMAROCZY, M., eds. **Azospirillum VI and related microorganisms**. Springer-Verlag, Berlin, 1995.p. 3-14.
- GARCIA DE SALOMONE, I. E.; DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology and Fertility of Soils**, v.21, p.193-196, 1996.
- LAMBRECHT, M.; OKON, Y.; VANDE BROEK, A.; VANDERELEYDEN, J. Indoles-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology**, v.8, p.298-300, 2000.
- OKON, Y. & VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **ASM News**, 63: 364-370, 1997.
- REIS, V.M. **Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas**. Documentos, Embrapa Agrobiologia, n° 232, 2007, 22p.
- SABATA, R.J.; MASON, S.C. Corn hybrid interactions with soil nitrogen level and water regime. **Journal of Production Agriculture**, v.5, p.137-142, 1992.