



ABSORÇÃO DE NITROGÊNIO POR GENÓTIPOS DE MILHO INOCULADOS COM *Herbaspirillum seropedicae* 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

A identificação, a seleção e o uso de genótipos de milho mais tolerantes à deficiência de N e eficientes na aquisição deste elemento constituem-se numa estratégia importante (REIS JUNIOR et al., 2008). Nesse sentido, deve ser considerada a busca por genótipos que formem associações mais eficientes com bactérias diazotróficas e promotoras do crescimento. Sabe-se que existem interações entre o N e essas bactérias na assimilação e utilização desse nutriente pelas plantas (REIS JUNIOR et al., 2008). Huergo et al. (2008), Cássan et al. (2008) e Donate-Correa et al. (2004) observaram, por exemplo, que bactérias diazotróficas, podem estimular o crescimento das plantas por atuar na capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN), no aumento da atividade da redutase do nitrato quando ocorrem endofiticamente nas plantas e na produção de fitohormônios como auxinas, giberilinas e citocininas.

Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a absorção de nitrogênio por genótipos de milho inoculados com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio, em ensaio conduzido em condições controladas de casa de vegetação.

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



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 distroférico 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 dm³, 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 por unidade experimental.



Aos 35 dias após a emergência 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 mol L⁻¹ e água deionizada, respectivamente. 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 moagem da massa seca em moinho tipo Wiley, sendo as amostras, submetidas à digestão sulfúrica, para determinação do teor de N nas diferentes partes da planta (raiz e parte aérea), de acordo com a metodologia descrita em Embrapa (2009). O índice de eficiência de utilização do nitrogênio, razão entre a massa seca total produzida e o acúmulo total de nutriente na planta, foi calculado de acordo com Siddiqi e Glass (1981).

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

Verificou-se aumento no teor de N na parte aérea, teor de N na raiz e eficiência de utilização de N por plantas de milho em resposta às doses de nitrogênio (Tabela 2). Esses resultados indicam respostas positivas no crescimento do milho promovido pela adubação nitrogenada. Reis Junior et al. (2008), verificaram maior teor de N na parte aérea, teor de N na raiz e eficiência de utilização de N em resposta às formas e doses de N. Resultados similares foram também obtidos por Dotto et al. (2010).

Os híbridos de milho apresentaram resposta significativa ($p \leq 0,05$) para teor de N na raiz e eficiência de utilização do N (Tabela 3). Para a eficiência de utilização de N, o híbrido BRS 3035 foi estatisticamente superior ($p \leq 0,05$) aos híbridos P3646H e Maximus (Tabela 3). O teor de N na raiz do híbrido Maximus foi superior aos híbridos P3646H e BRS 3035 (Tabela 3), demonstrando que o híbrido Maximus é mais eficiente na absorção de N. Tendo sido mencionado que tal diferença entre híbridos de milho, quanto à eficiência de utilização de N, se deve às variações genéticas existentes entre os híbridos de milho (ALFOLDI et al., 1992).



Tabela 2. Efeito da aplicação de doses de N sobre o teor de nitrogênio na parte aérea (TNPA), teor de nitrogênio na raiz (TNR) e eficiência de utilização do nitrogênio (EUN) por plantas de milho cultivadas em casa de vegetação e colhidas aos 35 dias após o plantio. Dourados, MS (2013).

Nitrogênio (kg ha ⁻¹)	TNPA (g kg ⁻¹)	TNR	EUN mg g ⁻¹
0	14,66 b	11,42 b	1,52 b
80	29,02 a	21,34 a	2,54 a

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

Tabela 3. Comportamento de três híbridos de milho em relação ao teor de nitrogênio na raiz (TNR) e eficiência de utilização de N (EUN). As plantas foram cultivadas em casa de vegetação e colhidas aos 35 dias após o plantio. Dourados, MS (2013).

Híbrido	TNR (g kg ⁻¹)	EUN mg g ⁻¹
Maximus	18,44 a	1,79 b
P3646H	15,91 ab	1,94 b
BRS 3035	14,79 b	2,36 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 teor de N na parte aérea e a eficiência de utilização de N (Tabela 4). O teor de N na parte aérea, bem como, a eficiência e utilização do N aumentaram na ordem de 14,74% e 17,11, respectivamente (Tabela 4). Este maior teor de N nas plantas inoculadas é resultado tanto da FBN, quanto dos mecanismos de promoção do crescimento, que podem incrementar a capacidade das plantas em absorver este nutriente.

Tabela 4. Efeito da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sobre teor de nitrogênio na parte aérea (TNPA) e eficiência de utilização de N (EUN) por plantas de milho cultivadas em casa de vegetação e colhidas aos 35 dias após o plantio. Dourados, MS (2013).

Inoculação	TNPA (g kg ⁻¹)	EUN mg g ⁻¹
Sem	20,34 b	1,87 b
Com	23,34 a	2,19 a
Aumento (%)	14,74	17,11

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



Houve interação positiva entre híbridos (H) de milho e a inoculação (I) com *H. seropedicae* sobre o teor de N na parte aérea. Observa-se que o híbrido Maximus foi superior no acúmulo de N na parte aérea, quando não inoculado com esta bactéria (Tabela 5). Com o processo de inoculação, o híbrido BRS 3035 foi superior aos demais híbridos de milho, quanto ao acúmulo de N na parte aérea, mesmo não havendo diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre os híbridos para o teor de N na parte aérea (Tabela 5).

Interação positiva entre a inoculação de *H. seropedicae* e os níveis de N foram observados para o teor de N na parte aérea das plantas. Observa-se que a inoculação da estirpe Z-94 de *H. seropedicae* acrescida de 80 kg ha⁻¹ de N proporcionou um aumento no teor de N na parte aérea de plantas de milho em até 25% em relação ao controle sem adubação e adubado com 80 kg ha⁻¹ (Tabela 6). Já em relação ao controle inoculado e não adubado, este aumento foi da ordem de 4%. Deve-se salientar que comumente é verificada uma maior contribuição da inoculação associada à adubação nitrogenada. A inoculação de *Herbaspirillum* na presença de pequenas doses de N mostra-se mais eficiente para o sistema planta-bactéria quando comparada com o uso isolado da bactéria.

Tabela 5. Teor de nitrogênio na parte aérea (TNPA) de três genótipos de milho inoculados ou não com *Herbaspirillum seropedicae*. Dourados, MS (2013).

Híbrido	TNPA (g kg ⁻¹)	
	Inoculação	
	Sem	Com
Maximus	23,40 aA	21,90 aA
P3646H	18,72 bB	22,84 aA
BRS 3035	18,91 bB	25,27 aA

As letras minúsculas separam as médias dentro das linhas e as maiúsculas separam as médias dentro de cada coluna. Letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Teor de N na parte aérea (TNPA) de plantas de milho em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*. Dourados, MS (2013).

Nitrogênio	TNPA (g kg ⁻¹)	
	Inoculação	
	Sem	Com
0	14,98 bA	14,35 bA
80 kg ha	25,71 aB	32,33 aA

As letras minúsculas separam as médias dentro das linhas e as maiúsculas separam as médias dentro de cada coluna. Letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



Conclusões

O híbrido BRS 3035 apresentou maiores índices de eficiência de utilização de N.

A inoculação com a estirpe Z-94 de *Herbaspirillum seropedicae* promoveu aumento no teor de N na parte aérea e na eficiência de utilização de N.

A inoculação da estirpe Z-94 de *H. seropedicae* acrescido de 80 kg ha⁻¹ de N aumentou o teor de N na parte aérea das plantas de milho em até 25% nos genótipos avaliados.

Referências

ALFOLDI, Z.; PINTER, L.; FEIL, B. Accumulation and partitioning of biomass and soluble carbohydrates in maize seedlings as affected by source of nitrogen, nitrogen concentration and cultivar. **Journal Plant Nutrition**, v.15, n.11, p.2567-2585, 1992.

CASSÁN, F.; SGROY, V.; PERRIG, D.; MASCIARELLI, O.; LUNA, V. Producción de fitohormonas por *Azospirillum sp.* Aspectos fisiológicos y tecnológicos de la promoción del crecimiento vegetal. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina***. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 61-86.

DONATE-CORREA, J.; LEON-BARRIOS, M.; PEREZ-GALDONA, R. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus*, a forage tree-shrub legume endemic to the Canary Islands. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.266, n.1-2, p.261-272, 2004.

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, 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.; PE-DROSA, F.O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. ***Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina***. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, 2008. p.17-35.

REIS JÚNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n.3, p. 1139-1146, 2008.