



Efeito da inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* em milho cultivado em solos sem correção da fertilidade⁽¹⁾

Sara Miranda da Silva⁽²⁾; Bruna Daniela Ortiz Lopez⁽²⁾; Júlia Xavier⁽²⁾; Farley Alexandre da Fonseca Breda⁽³⁾; Gabriela Cavalcanti Alves⁽⁵⁾; Veronica Massena Reis⁽⁶⁾.

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do Projeto Embrapa no. 01.13.05.001.03.04.001.

⁽²⁾ Graduanda da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. E-mail: saramirandads@gmail.com; brunaortiz@gmail.com; julia.f.xavier@outlook.com; ⁽⁴⁾ Doutorando CPGA-CS, UFRRJ, Seropédica, RJ. E-mail: farleyufrjr@hotmail.com; ⁽⁵⁾ Pós-doutoranda CPGA-CS, UFRRJ/Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ. E-mail: gabrielacalves@yahoo.com.br; ⁽⁶⁾ Pesquisador Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ. E-mail: veronica.massena@embrapa.br.

RESUMO: Visando uma maior produtividade sem grandes impactos ambientais tem-se como opção a inoculação de bactérias diazotróficas. E estas são capazes de fixar nitrogênio atmosférico, o que auxilia na redução de custos com adubação nitrogenada. O presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito da inoculação de *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe BR11417, em plantas de milho híbrido cultivadas em solos sem correção de fertilidade durante os primeiros 20 dias de crescimento. Para realização foi instalado um experimento em delineamento de blocos casualizados com oito repetições para avaliação dos fatores inoculação, tempo de coleta e tipo de solo (Planossolo e Argissolo). As variáveis avaliadas foram massa seca de raiz e parte aérea além da contagem da população usando o método do número mais provável. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para o acúmulo de massa seca da parte aérea nas três avaliações. No entanto a massa seca de raiz dos tratamentos inoculados refletiram em maiores valores, principalmente no Planossolo. A população avaliada mostrou-se superior no tratamento inoculado apenas na contagem realizada aos 15 dias após emergência sendo maior nas raízes.

Termos de indexação: Fixação biológica de nitrogênio, inoculante, interação planta-bactéria.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho sendo a produção da safra 13/14 de 80.052 toneladas de grãos (Conab, 2015). É uma importante fonte de proteína usada tanto para alimentação humana, animal e recentemente para fins energéticos. Boa parte do cultivo do grão é destinada para o consumo, porém uma menor parte é destinada a indústria de produção de rações de animais. As principais regiões que produzem milho são Centro - Oeste, Sudeste e Sul (Ministério da Agricultura, 2015).

Visando aumento da produtividade agrícola e diminuição dos impactos ambientais advindo do uso crescentes de fontes solúveis de nutrientes como o nitrogênio tem-se como opção a inoculação de bactérias diazotróficas selecionadas para esta cultura. Estas espécies são capazes de fixar nitrogênio atmosférico, o que auxilia na redução de custos com adubação nitrogenada.

No estado do Rio de Janeiro a agricultura é pouco expressiva comparada a outros estados brasileiros e muitas vezes feita sem a correção adequada do solo. No Rio de Janeiro predominam 2 classes de solo: Planossolo e Argissolo. São dois solos contrastantes. Os planossolos são solos pouco profundos, com um horizonte superficial de cores claras e com textura de arenosa a média. Já os argissolos, de cores de vermelho a amarelo, textura argilosa e possuem um horizonte B textural (SANTOS et al. 2006).

O presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito da inoculação de *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe BR11417, em plantas de milho híbrido cultivadas em dois tipos de solo sem a correção de fertilidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Embrapa Agrobiologia. Para tal foi utilizado amostras de horizonte A de Planossolo e Argissolo provenientes da área experimental da Embrapa Agrobiologia. As sementes de milho utilizadas foram de híbrido triplo Santa Helena (SHS5050), todas tratadas com fungicida. Antes do plantio as sementes foram inoculadas com inoculante turfoso de *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe BR 11417 em metade dos vasos e outra metade controle, respeitando a proporção 25g de inoculante para 1kg de sementes. Foram plantadas duas sementes por vasos, logo após a emergência foi feito o desbaste deixando apenas uma. Foram realizadas três coletas aos 10, 15 e 20 dias após a emergência (DAE). Para as plantas coletadas aos 10 dias foi utilizado vasos de 4 kg e para as de 15 e



20 dias vasos de 6 kg permitindo o melhor desenvolvimento das raízes. Não foi realizada nenhum tipo de correção do solo (Tabela 1).

Tabela 1. Análise química das amostras de solo utilizadas como substrato para plantas de milho.

Camada superficial	% C	Al	Ca	H+Al	K	Mg	P	N (%)	pH H ₂ O
		-----cmol _d /dm ³ -----			-----mg L ⁻¹ -----				
Argissolo	1,16	0,11	1,39	4,85	56	1,03	1,99	0,12	5,15
Planossolo	0,2	0,02	0,54	1,93	13	0,25	5,51	0,02	4,16

Com o auxílio de uma trena foi medido a altura das plantas, assim como, a largura e comprimento da folha +1. Em uma balança de precisão foi verificado a massa seca da raiz e da parte aérea. Através do método do número mais provável (NMP) foi feita a contagem de bactérias. Esses procedimentos foram realizados em todas as coletas.

As amostras utilizadas na contagem de bactérias foram lavadas com água corrente superficialmente com água destilada, depois fragmentadas em pedaços pequenos. Em seguida foi retirado 10 g das amostras e maceradas, separadamente, em liquidificador com 90 mL de solução salina (diluição 10⁻¹). Estas amostras passaram por agitação de 150 rpm por 30 min. Com as amostras preparadas foi feita a diluição seriada em tubos de ensaio até a diluição 10⁻⁵ (1mL de amostra/9 mL de solução salina). Das diluições 10⁻³, 10⁻⁴ e 10⁻⁵ foram retiradas alíquotas de 100µl e inoculadas em frascos contendo 5 mL de meio semi-sólido JNFB, em três repetições por diluição. Esses frascos foram colocados em estufa a 30°C por 3 a 7 dias até poder ser verificada a formação de película típica próxima à superfície indicando presença da bactéria inoculada. A contagem, propriamente dita, foi verificada com a utilização da tabela de McCrady para 3 repetições por diluição (BALDANI et al., 2014).

As amostras de raiz e parte aérea foram submetidas a estufa a 65° por 72 h e em seguida verificado o peso da massa seca. Após isto, foram moídas e analisadas quanto ao teor de N.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 8 repetições e as análises estatísticas dos dados obtidas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando o software Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para o acúmulo de massa seca da parte aérea nos dois solos entretanto aos 15 DAE o crescimento (**Figura 1**). Contudo, ao analisarmos a variável massa seca da raiz observou-se efeito da

inoculação. O tratamento inoculado promoveu aumento no sistema radicular apenas no solo com maior restrição de fertilidade, o Planossolo (**Figura 2**). Nestas condições de acidez (pH 4,16) e menos bases principalmente K, seria esperado que as plantas de milho diminuíssem o crescimento conforme observado no controle não inoculado. O que foi observado foi o inverso, a inoculação aumentou em 150% o acúmulo de massa de raiz aos 15 dias sendo este mesmo aumento em relação a MSR acumulada no Argissolo.

Na Tabela 2 pode-se observar que houve uma maior população de bactérias contadas na amostra de raiz e que a população do tratamento inoculado só aumentou aos 15 DAE, onde também foram observados os maiores efeitos. Este aumento de 10 vezes no número de células refletiu em ganhos de massa apenas no Planossolo, que manteve este aumento em menor magnitude até os 20 DAE. No Argissolo este incremento populacional não foi observado aos 20 DAE.

Silva et al. (2004) observaram que bactérias diazotróficas colonizam o solo e as raízes das plantas de arroz irrigado, sendo a população geralmente maior na superfície radicular (rizoplane) em relação ao solo e interior das raízes (endorizosfera). No Planossolo a presença das bactérias foi mais evidente. O Argissolo por originalmente ser mais fértil que o Planossolo (Tabela 1) pode apresentar mais microrganismos competindo pelos exsudados da planta, o que dificultaria analisar os efeitos da inoculação.

Tabela 2. Contagem do Número Mais Provável (células g massa fresca⁻¹) de amostras de raiz e parte aérea de milho aos 10, 15 e 20 DAE em meio de cultivo semi-sólido JNFB, sem adição de nitrogênio

Tratamentos		10 DAE		15 DAE		20 DAE	
		PA	Raiz	PA	Raiz	PA	Raiz
		Número de células g ⁻¹ massa fresca de raiz X 10 ⁵					
Planossolo	NI	0,04	0,75	0,09	0,07	nd	0,25
	I	nd	0,45	nd	0,75	0,04	0,45
Argissolo	NI	0,95	0,04	nd	0,4	0,04	0,04
	I	nd	0,04	nd	4,5	0,04	0,04

NI = Não inoculado; I = Inoculado com *Herbaspirillum seropedicae* estirpe BR11117. nd = não detectado na diluição mais baixa de 10⁴. Valores médios de quatro repetições.

Os efeitos positivos da interação com a bactéria são decorrentes de alterações morfológicas e fisiológicas nas raízes das plantas inoculadas acarretando na maior absorção de água e nutrientes (CASSÁN et al. 2014), essas alterações podem estar favorecendo o acúmulo de massa na parte aérea.

CONCLUSÕES

A inoculação promove o acúmulo de massa seca de raiz em plantas de milho cultivadas em



Planossolo sem correção de fertilidade aos 15 dias após a emergência.

A população de *Herbaspirillum seropedicae* estirpe BR11147 foi 10 vezes superior ao controle não inoculado nas raízes nesta mesma fase de crescimento das plantas de milho híbrido SHS5050.

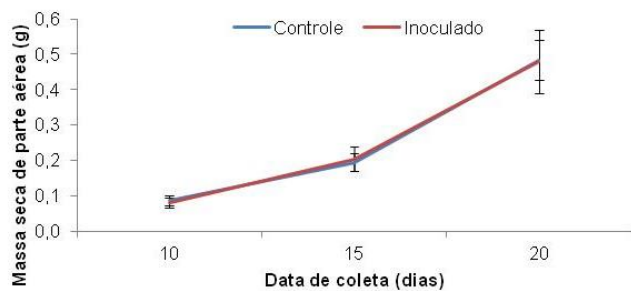
AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelas bolsas concedidas e à Embrapa Agrobiologia projeto número 01.13.05.001.03.04.

REFERÊNCIAS

- BALDANI, J.I.; REIS, V.M.; VIDEIRA, S.S.; BODDEY, L.H. & BALDANI, V.L.D. The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists. *Plant Soil*, 384:413-431, 2014.
- CASSÁN, F.; VANDERLEYDEN, J. & SPAEPEN, S. Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plant-bacteria-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*. *J. Plant Growth Regulat.*, 33:440459, 2014.
- CONAB - 2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_10_09_2_05_boletim_graos_abril_2015.pdf> Acesso em 10 de maio de 2015.
- FERREIRA, D.F. Sisvar, Versão 4.6. 2003 DEX/UFLA. 2003. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/danielff/sisvar>>. Acesso em: 15 Out. 2014.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho> Acesso em 10 de maio de 2015.
- SILVA, D. M. da; FRIES, M. R.; ANTONIOLLI, Z. I.; AITA, C.; VOSS, M.; JACQUES, R.; SEMINOTTI, J.; CARVALHO, C. A. de. Maior população de bactérias diazotróficas na superfície radicular em relação ao solo e interior das raízes. *Rev. Bras. Agrociên.*, 10:Out-Dez, 2004.
- SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C. dos; OLIVEIRA, V.A. de; OLIVEIRA, J.B. de; COELHO, M.R.; LUMBRERAS, J.F. & CUNHA, T.J.F. (Eds). Sistema brasileiro de classificação de solos. 2.ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2006. 306p.

a) Argissolo



b) Planossolo

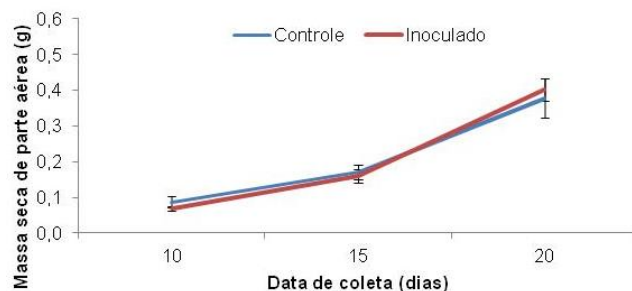
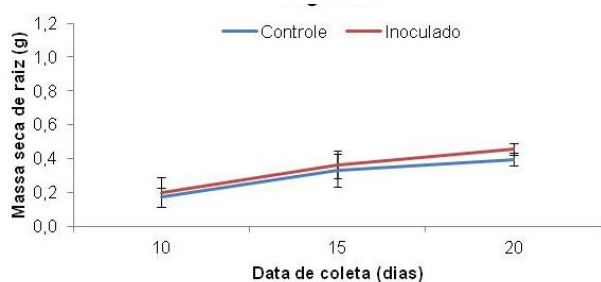


Figura 1: Massa seca total em gramas (g) das plantas do híbrido triplo SHS5050 cultivadas no Argissolo (a) e no Planossolo (b) aos 10, 15 e 20 DAE com e sem a inoculação da bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae* estirpe BR11417. Valores médios seguidos do desvio padrão da média de quatro repetições.

a) Argissolo



b) Planossolo

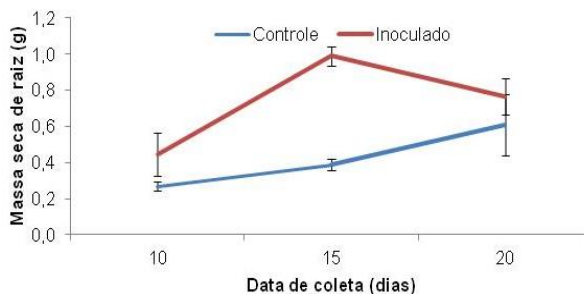


Figura 2: Massa seca de raiz (g) de plantas do híbrido triplo SHS5050 cultivadas no Argissolo (a) e no Planossolo (b) aos 10, 15 e 20 DAE com e sem a inoculação da bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae* estirpe BR11417. Valores médios seguidos do desvio padrão da média de quatro repetições.