



## Inoculação de milho utilizando a bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae* via semente e foliar <sup>(1)</sup>

**Gabriela Cavalcanti Alves<sup>(2)</sup>; Bruna Daniela Ortiz Lopez<sup>(3)</sup>;  
Farley Alexandre da Fonseca Breda<sup>(4)</sup>; Veronica Massena Reis<sup>(5)</sup>**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos da Embrapa.

<sup>(2)</sup> Pós-doutoranda; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro/Embrapa Agrobiologia; Seropédica, RJ; E-mail: [gabrielacalves@yahoo.com.br](mailto:gabrielacalves@yahoo.com.br); <sup>(3)</sup> Graduanda, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro <sup>(4)</sup> Doutorando, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; <sup>(5)</sup> Pesquisadora; Embrapa Agrobiologia

**RESUMO:** O milho é um importante cereal com múltiplos usos na alimentação e na produção de energia. A utilização de tecnologias, como as bactérias diazotróficas promotoras de crescimento de plantas, que aumentem a sua produtividade com a melhor utilização dos insumos é desejável. O presente estudo foi conduzido para avaliar a inoculação foliar de *Herbaspirillum seropedicae* como alternativa ou complementação a inoculação via semente em plantas de milho SHS5050. Para tal foi implantado um experimento de campo em blocos casualizados com quatro tratamentos: controle, inoculado com *Herbaspirillum seropedicae* estirpe BR 11417 via semente, inoculado via foliar e inoculado via semente+foliar, com quatro repetições. As sementes foram cobertas com inoculante com  $10^8$  células  $g^{-1}$  de turfa. A inoculação foliar foi feita no V3, V5 e V8 das plantas, na proporção de 100 L  $ha^{-1}$  de calda com uma concentração de  $10^7$  células  $mL^{-1}$  da mesma estirpe. As variáveis estudadas foram: produtividade de grãos, peso de mil grãos e peso seco de raízes extraídas de trincheiras abertas na fase de enchimento de grãos. Os tratamentos inoculados apresentaram maior peso seco de raízes com 37,5% a mais que o controle. A inoculação via semente promoveu aumento na produtividade média de grãos em 32%, no entanto, a inoculação foliar teve um efeito 50% maior que o controle e semelhante ao tratamento de complementação. Conclui-se que a inoculação foliar tem maior viabilidade do que a inoculação via semente.

**Termos de indexação:** Fixação biológica de nitrogênio, raízes, inoculante.

### INTRODUÇÃO

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) são microrganismos que se associam com as plantas podendo auxiliá-las no seu crescimento por diferentes mecanismos. A sua introdução em sistemas de cultivo contribui para uma melhor produtividade das culturas (Díaz-Zorita et al., 2009).

*Herbaspirillum* spp. coloniza abundantemente e expressa genes *nif* em plantas de arroz, milho,

sorgo e trigo (Elbeltagy et al., 2001). Devido à natureza quase patogênica de algumas estirpes e a alta capacidade para se inserir nas plantas hospedeiras, a associação *Herbaspirillum*-planta tem sido estudada em grande detalhe em nível molecular, fisiológico e microscópico e tem assim tornado-se um modelo para entender as complexidades da promoção no crescimento de plantas (Monteiro et al, 2012).

Informações sobre os benefícios da inoculação sobre o crescimento das plantas já estão disponíveis, porém, tais estudos foram, em geral, desenvolvidos em condições de casa de vegetação e laboratório. O conhecimento desses efeitos em grandes ensaios é ainda bastante limitado.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a inoculação foliar de *Herbaspirillum seropedicae* como alternativa ou complementação a inoculação via semente em plantas de milho SHS5050.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na área experimental da Embrapa Agrobiologia, sob um Planossolo Háplico distrófico arênico (**Tabela 1**). Foi feita a correção da fertilidade com 555 kg  $ha^{-1}$  de Superfosfato Simples, 34 kg  $ha^{-1}$  de KCl e 40 kg  $ha^{-1}$  de FTE. Todas as parcelas também receberam o equivalente a 40 kg  $ha^{-1}$  de sulfato de amônio parcelado no plantio e no V5.

**Tabela 1** - Análise química do horizonte A do solo Planossolo Háplico distrófico arênico onde o experimento foi instalado

pH	C	Al	Ca	Mg	N	P	K
H <sub>2</sub> O	%	cmolc	dm <sup>-3</sup>		%	mg	L <sup>-1</sup>
5,73	0,28	0,0	0,82	0,29	0,07	1,0	27,0

Procedimentos baseados em Nogueira & Souza, 2005.

O espaçamento foi de 0,8 m entre linhas e 0,2 m entre plantas. As parcelas foram de 20 m<sup>2</sup> e foram plantadas 2 sementes do híbrido triplo SHS5050 por sulco. O desbaste foi feito aos 10 dias após a germinação deixando uma semente por sulco. Os tratamentos foram: controle, inoculação via semente, inoculação via foliar e inoculação via

semente + foliar. O delineamento foi em blocos casualizados com 4 repetições.

O inoculante contendo a estirpe BR 11417 de *Herbaspirillum seropedicae* foi produzido em meio de cultivo DYGS líquido (Baldani et al., 2014) crescido à 30°C por 24 h a 150 rpm. O inoculante turfoso foi produzido injetando 75 mL de inoculo em 175 g de turfa neutralizada estéril. O inoculante líquido foi feito diluindo-se o inóculo na proporção de 1/100 v/v em água por ocasião da aplicação.

Para inoculação via semente, estas foram cobertas com inoculante turfoso contendo a estirpe BR 11417 de *Herbaspirillum seropedicae*, com  $10^8$  células  $g^{-1}$  de inoculante na proporção de 250 g para 10 kg de semente. Para a inoculação via foliar as plantas, nos estágios de desenvolvimento V3, V5 e V8 (3, 5 e 8 folhas expandidas) foram pulverizadas com uma solução aquosa na concentração de  $10^7$  células  $mL^{-1}$  e 0,1% de óleo mineral.

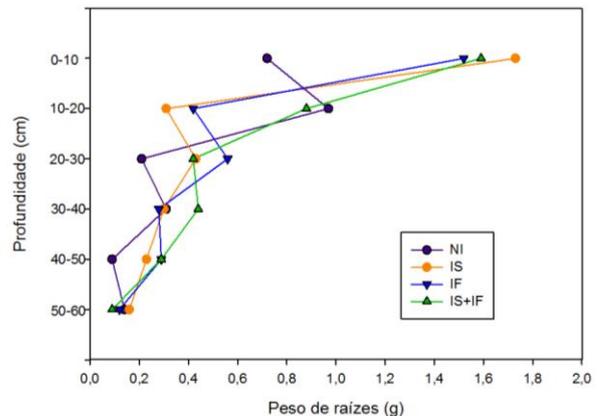
Na fase de enchimento de grão foram abertas trincheiras com 60 cm de profundidade em 1 parcela de cada tratamento. Nas camadas de 0-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50 e 50-60cm foram retiradas amostras com auxílio de um coletor com  $10 \times 20 \times 5$   $cm^3$ . Em cada amostra as raízes foram separadas e secas para avaliação do peso seco por camada.

No final do ciclo foram coletadas as espigas e avaliadas as variáveis: produtividade média de grãos ( $kg\ ha^{-1}$ ) e peso de mil grãos (g). Os valores foram submetidos a análise da variância e o teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

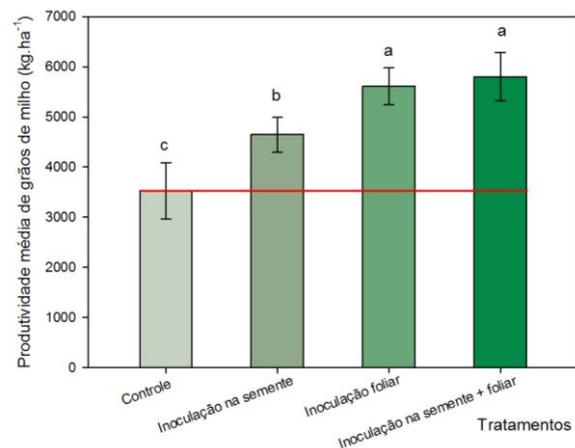
Os tratamentos inoculados apresentaram maior peso de raízes com 37,5% mais massa do que o controle. Já na primeira camada de solo o sistema radicular das plantas inoculadas é 140 vezes superior ao controle. Além disso, enquanto o sistema radicular no controle se concentra até 20 primeiros cm de profundidade, nos tratamentos inoculados ocorre de forma mais distribuída, principalmente no tratamento com inoculação via semente+foliar até os 50 cm de profundidade (Figura 1).

A rizosfera é reconhecida como um habitat microbiano ativo com interações biológicas complexas e multitróficas entre micróbios e organismos eucarióticos (Valverde et al., 2015). A inoculação aumentou o crescimento radicular das plantas, pois as bactérias podem desempenhar um papel importante na aquisição de nutrientes pelas plantas, induzindo o acúmulo de biomassa radicular e / ou impedindo aqueles que poderiam ter efeitos prejudiciais sobre o desenvolvimento do sistema radicular (Glick, 2012).



**Figura 1** - Peso de raízes (g) de plantas de milho em até 60 cm de profundidade em tratamentos inoculados (IS, IF, IS+IF) e controle não inoculado (NI)

A inoculação promoveu aumento na produtividade média de grãos em 32%. No entanto, a inoculação foliar teve um efeito 50% maior que o controle, igualando-se ao tratamento combinando as duas formas de inoculação (Figura 2).

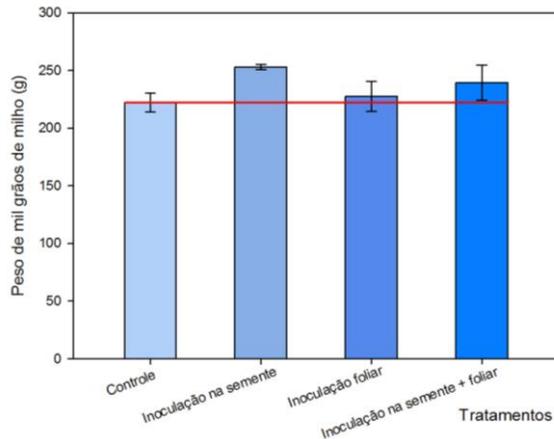


**Figura 2** - Produtividade média de grãos de milho ( $kg\ ha^{-1}$ ) em diferentes tratamentos inoculados e controle

As BPCPs podem ser utilizadas como entradas para aumentar o rendimento das culturas. Canellas et al. (2013) estudando plantas de milho verificaram que o tratamento com ácidos húmicos e *Herbaspirillum seropedicae* estimularam a  $H^+$ -ATPase da membrana plasmática nas raízes, aumentando a entrada de nutrientes.

No peso de 1000 grãos não foi observada diferença significativa (Figura 3). Contudo, os tratamentos inoculados apresentaram maiores valores do que o controle, de 7 a 12%, refletindo um

possível aumento na qualidade dos grãos inoculados.



**Figura 3** - Peso de mil grãos de milho (g) em tratamentos inoculados e controle

Esta variável é utilizada na mecanização, para informar o tamanho da semente, mas é um atributo de qualidade física e está altamente relacionada a fertilidade do solo. Novakowski et al. (2011) observaram efeito sobre a massa de 1000 grãos com aumento da adubação nitrogenada na cultura do milho.

A inoculação das BPCPs induz o desenvolvimento radicular, acarretando um incremento na quantidade de nutrientes adquiridos pelas raízes e acumulando-os nos tecidos das plantas, que podem ser alcançados não só via aumento de disponibilidade de nutrientes no solo como da funcionalidade da membrana plasmática (Vacheron et al., 2013).

Embora estas evidências sejam promissoras, ainda há muitos aspectos que devem ser explorados, a fim de obter uma melhor compreensão de todas as interações entre plantas e as BPCPs envolvidas.

### CONCLUSÕES

A inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe BR 11417, aumenta o sistema radicular em até 52% e em mais de 32% a produtividade média de grãos.

A inoculação foliar supera a inoculação via semente em cerca de 900 kg ha<sup>-1</sup> e não difere da inoculação via semente+foliar, sendo a prática mais vantajosa.

### 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 et al. 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.

CANELAS, L. P; BALMORI, D. M; MÉDICI, L. O. et al. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.) *Plant Soil* 366:119–132, 2013.

DÍAZ-ZORITA, M. and FERNANDEZ-CANIGIA, M. V. Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum brasilense* on dryland wheat productivity. *Eur. J. Soil Biol.*, 45: 3-11. 2009.

ELBELTAGY A.; NISHIOKA, K.; SATO, T. et al. Endophytic colonization and in planta nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. isolated from wild rice species applied and environmental microbiology, 67, 11: 5285–5293, 2001.

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica* 2012:1–15, 2012.

MONTEIRO, R. A.; BALSANELLI, E.; WASSEM, R.; et al. *Herbaspirillum*-plant interactions: microscopical, histological and molecular aspects *Plant Soil*, 356:175–196, 2012.

NOGUEIRA, A. R. A. & SOUZA, G. B. Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 313p.

NOWAKOWSKI, J. H; SANDINI, I. E.; FALBO, M. K. et al. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. *Semina: Ciências Agrárias*, 32: 1687-1698, 2011.

VALVERDE, C.; RAMIRÉZ, C; KLOEPPER, J. W et al. Current Research on Plant-Growth Promoting Rhizobacteria in Latin America: Meeting Report from the 2nd Latin American PGPR Workshop. *J Plant Growth Regul* 34:215–219, 2015.

VACHERON, J; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M. L. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front Plant Sci* 4:356, 2013.

**XXXV Congresso  
Brasileiro de  
Ciência do Solo**

CENTRO DE CONVENÇÕES - NATAL / RN



**O SOLO E SUAS  
MÚLTIPLAS FUNÇÕES**  
02 a 07 DE AGOSTO DE 2015