

# Produtividade de milho na presença de doses de N e de inoculação de *Herbaspirillum seropedicae*

Farley Alexandre da Fonseca Breda<sup>(1)</sup>, Gabriela Cavalcanti Alves<sup>(1)</sup> e Veronica Massena Reis<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, BR 465, Km 07, CEP 23890-000 Seropédica, RJ, Brasil. E-mail: farleyufrj@gmail.com, gabrielacalves@yahoo.com.br <sup>(2)</sup>Embrapa Agrobiologia, BR 465, Km 07, Bairro Ecologia, CEP 23891-000 Seropédica, RJ, Brasil. E-mail: veronica.massena@embrapa.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de nitrogênio e da inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* sobre a produtividade de milho (*Zea mays*) e os teores de nutrientes nos grãos. Os híbridos simples BRS 1030 e BRS 1060 receberam inoculação da estirpe BR 11417, na presença ou não de doses de adubação nitrogenada, em Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico, durante os períodos de entressafra (plantio em maio de 2012) e safra (plantio em outubro de 2012). Em cada época, os seguintes tratamentos foram avaliados: controle absoluto, sem adubação nitrogenada nem inoculação; controle com inoculação; doses de 50 e 100 kg ha<sup>-1</sup> de N, sem inoculação; e dose de 50 kg ha<sup>-1</sup> de N mais inoculação. BRS 1030 produziu 1.157 kg ha<sup>-1</sup> a mais de grãos que BRS 1060, na análise conjunta dos dois cultivos. Para o primeiro genótipo, a dose de 50 kg ha<sup>-1</sup> de N, com inoculação, incrementou em 2% a produtividade na entressafra e em 4,5% na safra. A inoculação de *H. seropedicae*, estirpe BR 11417, favorece o acúmulo de P nos grãos, mas tem efeito positivo sobre a produtividade somente em combinação com doses de N mineral, o que indica que seu efeito é mais destacado na promoção do crescimento do milho do que na fixação biológica de N.

Termos para indexação: *Zea mays*, fixação biológica de nitrogênio, inoculação de gramíneas, promoção do crescimento.

## Productivity of maize in the presence of nitrogen levels and inoculation with *Herbaspirillum seropedicae*

Abstract – The objective of this work was to evaluate the effect of nitrogen and inoculation with *Herbaspirillum seropedicae* on maize (*Zea mays*) yield and nutrient contents in grains. The BRS 1030 and BRS 1060 simple hybrids received inoculation with the BR 11417 strain in the presence or absence of nitrogen-fertilizer levels in a Typic Hapludult, during the periods of off-season (sowing in May 2012) and season (sowing in October 2012). In each season, the following treatments were evaluated: absolute control, without nitrogen fertilization or inoculation; inoculated control; doses of 50 and 100 kg ha<sup>-1</sup> N, without inoculation; and dose of 50 kg ha<sup>-1</sup> N plus inoculation. BRS 1030 produced 1,157 kg ha<sup>-1</sup> more grains than BRS 1060, in the joint analysis of both crop seasons. For the first genotype, the dose of 50 kg ha<sup>-1</sup> N with inoculation increased crop productivity by 2% in the off-season and by 4.5% in the season. The inoculation with *H. seropedicae*, BR 11417 strain, favors P accumulation in grains, but it has positive effect on yield only in combination with mineral N levels, which indicates that its effect is more important for maize growth promotion than for biological N fixation.

Index terms: *Zea mays*, nitrogen biological fixation, inoculation of grasses, growth promotion.

### Introdução

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é bastante exigente quanto à fertilidade do solo, especialmente quanto à disponibilidade de nitrogênio. A deficiência deste macronutriente pode reduzir o rendimento de grãos entre 10 e 22% (Subedi & Ma, 2009). No Brasil, a cultura do milho tem-se caracterizado pela divisão da produção em duas épocas de plantio: plantio de verão ou safra, no final do verão; e safrinha ou segunda safra, no início do inverno.

As bactérias diazotróficas e promotoras do crescimento promovem a fixação biológica de nitrogênio (FBN), a produção de reguladores de crescimento e de sideróforos e a solubilização de fosfatos, entre outros benefícios para as plantas (Bhattacharyya & Jha, 2012). Portanto, há inoculantes comerciais para gramíneas, com essas bactérias, em todo o mundo. No entanto, esses produtos somente usam bactérias do gênero *Azospirillum* spp. Hungria et al. (2010), por exemplo, avaliaram a eficiência

agronômica de *Azospirillum brasilense*, em campo, em 18 ensaios, e selecionaram as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 para produção de inoculantes para a cultura do milho. Essas estirpes proporcionaram incrementos de 662 a 823 kg ha<sup>-1</sup> na produtividade de grãos, ou de 24 a 30%, em relação ao controle não inoculado. O maior obstáculo para a utilização dessa tecnologia, contudo, reside na inconsistência das respostas à inoculação, que normalmente está ligada às condições edafoclimáticas dos experimentos, a interações com a biota do solo, à estirpe utilizada e à qualidade dos inoculantes (Reis, 2006).

Nesse contexto, as bactérias da espécie *Herbaspirillum seropedicae* têm contribuído nos estudos das associações de microrganismos com as plantas, por apresentarem maior especificidade de interação, uma vez que são endófitos obrigatórios com baixa sobrevivência no solo (Baldani et al., 1986). Entretanto, sua aplicação como inoculante na cultura de milho ainda é escassa. Alves et al. (2015) observaram que a estirpe BR 11417 foi superior a outras 20 estirpes do gênero, e a selecionaram para avaliações em campo quanto à produtividade e à contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada. Já Dartora et al. (2013) compararam *H. seropedicae* com *A. brasilense*, estirpe Ab-V5, na presença de doses crescentes de N, de 0 a 160 kg ha<sup>-1</sup>, e relataram que a inoculação combinada das espécies aumentou em até 7% a produtividade de grãos.

Outro aspecto que aumenta o interesse pelo estudo de gramíneas associadas a *H. seropedicae* está no fato de que este microrganismo é capaz de solubilizar o fósforo inorgânico e atuar sobre o crescimento de raízes (Estrada et al., 2013), com possíveis implicações para a nutrição fosfatada das plantas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de nitrogênio e da inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* sobre a produtividade de milho (*Zea mays*) e os teores de nutrientes nos grãos.

### Material e Métodos

Foram conduzidos dois experimentos na área experimental da Embrapa Agrobiologia, em Seropédica, RJ (22°45'S, 43°41'W, a 33 m de altitude). O clima da região é do tipo Aw, de acordo com a classificação de Köppen, com inverno seco e verão quente e chuvoso, e com temperatura média anual de 24°C. O solo da

área é classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico. O primeiro experimento foi plantado em maio de 2012, no período da entressafra, com temperatura média entre 21,1 e 21,8°C, e precipitação de 31,4 a 103 mm (plantio de inverno). O segundo experimento foi plantado em outubro de 2012, na safra, com temperatura entre 23,4 e 27,8°C, e precipitação de 101,2 a 363,3 mm (plantio de verão).

Em ambos os experimentos, foram avaliados dois híbridos simples de milho: BRS 1030 e BRS 1060. Utilizou-se o delineamento de blocos ao acaso, com cinco tratamentos e cinco repetições, no total de 25 parcelas. Cada parcela foi constituída de cinco linhas de 5,0 m, o que totalizou 25 m<sup>2</sup>. As duas linhas externas de cada parcela foram consideradas como bordadura, e as parcelas foram espaçadas em 1,0 m entre si. O plantio foi realizado no espaçamento de 1,0x0,2 m, para uma população de 50.000 plantas por hectare.

Os tratamentos avaliados foram: controle absoluto, sem adubação nitrogenada nem inoculação; controle com inoculação; doses de 50 e 100 kg ha<sup>-1</sup> de N, sem inoculação; e dose de 50 kg ha<sup>-1</sup> de N mais inoculação. Os dois ensaios foram conduzidos na mesma área, tendo-se sorteado as parcelas a cada novo plantio.

A semeadura do milho foi feita no sistema convencional, com uma aração e duas gradagens, além de capinas manuais para controle de invasoras. A análise química do solo, na camada de 0–20 cm de profundidade, apresentou os seguintes resultados: pH em H<sub>2</sub>O de 5,38; Al não detectado; 3,47 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Ca+Mg; 2,56 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Ca; 0,91 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Mg; 5,14 mg dm<sup>-3</sup> de P (Mehlich-1); e 55 mg dm<sup>-3</sup> de K. A adubação com 80 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, na forma de superfosfato simples, e de 20 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, na forma de cloreto de potássio, foi aplicada na cova de plantio. Posteriormente, em cada cova, foram plantadas, manualmente, duas sementes a 3,0 cm de profundidade, e, aos 15 dias após a emergência, foi realizado o desbaste para deixar uma planta por cova. O N foi aplicado em duas doses: 50% no estágio V4 e 50% no V6, com ureia (45% de N). Na entressafra, as plantas foram irrigadas por aspersão, quando necessário, e o inseticida biológico Dipel (*Bacillus thuringiensis*) foi aplicado para controle da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*).

Utilizou-se a estirpe BR 11417 (também denominada de ZAE94) de *H. seropedicae*, adquirida

da Coleção de Bactérias Diazotróficas da Embrapa Agrobiologia. A estirpe foi inicialmente crescida em placa com meio de cultura sólido JNFb (Baldani et al., 2014), para verificação da pureza. Para a obtenção do inoculante, colônias puras foram inoculadas no meio de cultura DYGS (Baldani et al., 2014) e multiplicadas por 24 horas, a 30°C, em mesa agitadora a 175 rpm. Após crescimento, 75 mL da suspensão celular com  $10^9$  células  $\text{mL}^{-1}$  foram misturados a 175 g de turfa moída, neutralizada e esterilizada, e, em seguida, homogeneizada. As sementes foram cobertas com solução de polvilho, a 10%, e misturadas à turfa na proporção de 250 g de inoculante para 10 kg de semente. Cada semente recebeu uma dose estimada de  $10^6$  células.

Por ocasião da colheita dos grãos, foram avaliados: produtividade ( $\text{kg ha}^{-1}$ ); peso de 1.000 grãos; e conteúdo e acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio nos grãos. Como não houve diferença no número de plantas por parcela, a produtividade foi obtida pela amostragem de 25 plantas colhidas aleatoriamente na parcela útil. Após debulhar as espigas, a massa total de grãos foi pesada, tendo-se retirado uma subamostra de peso médio de 300 g. Essa subamostra foi levada para estufa de circulação forçada, a 65°C, até peso constante, para determinação do teor de umidade dos grãos. Posteriormente, corrigiu-se a produtividade para umidade padrão de 13%.

Os teores de N nos grãos foram obtidos de acordo com Carmo et al. (2000), tendo-se analisado os extratos obtidos na digestão sulfúrica, por meio da determinação de amônio com o método semimicro Kjeldahl (Bremner & Mulvaney, 1978). Os teores de P e K foram avaliados como em Nogueira & Souza (2005), tendo-se utilizado os valores de produtividade e os teores de N, P e K para determinar o total acumulado nos grãos de milho ( $\text{kg ha}^{-1}$ ).

Os experimentos foram avaliados separadamente e com análise conjunta. As diferenças entre os híbridos foram estimadas com a análise dos experimentos separadamente. Já as estimativas quanto à época de plantio foram avaliadas por meio da análise conjunta, tendo-se considerado épocas, genótipos e tratamentos ( $2 \times 2 \times 5$ ).

As análises estatísticas foram realizadas com o programa Sisvar, versão 5.3 (Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil), exceto o teste de homogeneidade das variâncias (teste de Cochran &

Bartlett), que foi realizado com o programa Saeg, versão 8.0 (Euclides, 1983). Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, e as pressuposições necessárias para a avaliação dos dados por testes paramétricos foram todas atendidas. Os dados foram submetidos à análise de variância, e, quando significativa, os tratamentos foram submetidos a testes de média ou à análise de regressão, a 5% de probabilidade.

## Resultados e Discussão

A média de produtividade de grãos foi significativamente superior (41%) no plantio de inverno (entressafra/safrinha), quando comparado ao plantio de verão (safra), em que o plantio foi realizado em condições meteorológicas favoráveis (Tabela 1). A menor produção na safra possivelmente esteve associada a um verão nebuloso, com mais de 20 dias de chuvas, e ao acúmulo de precipitação superior a 350 mm no mês, o que repercutiu na produtividade média desse cereal de metabolismo C4. Já na safrinha, ocorreu o inverso, com dias de sol e sem limitação hídrica durante o crescimento da planta, o que inverteu os dados de produção esperados.

O híbrido BRS 1030 respondeu à adição de N, nas duas safras (Tabela 1), enquanto o BRS 1060 não respondeu à adubação na safrinha, mas comportou-se da mesma forma que o BRS 1030 na safra. O híbrido BRS 1030 apresentou produtividade cerca de 10% maior que o BRS 1060, no acumulado dos dois cultivos.

Em comparação ao controle absoluto, o tratamento  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de N + inoculação aumentou a produtividade nas duas safras, com o genótipo BRS 1030. Já o genótipo BRS 1060 apresentou resposta somente na safra (Tabela 1).

Na safrinha, com a dose de  $50 \text{ kg ha}^{-1}$ , o genótipo BRS 1030 produziu 3,3% a mais que o controle sem N, e, no tratamento apenas com inoculação, 5,4% a mais. Na safra, esse comportamento se repetiu; porém, as respostas à adubação foram muito mais drásticas, com aumento na produtividade de 86,3 e 94,7%, na presença de adubação mineral e de inoculação, respectivamente.

Para o híbrido BRS 1060, os efeitos associados do N e da inoculação também foram marcantes, na safra, com aumento de 82,4%, na presença de adubação nitrogenada ( $50$  e  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de N), e de 70,9%, com  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de N + inoculação.

Nos dados acumulados dos dois cultivos, o tratamento 50 kg ha<sup>-1</sup> de N + inoculação, no híbrido BRS 1030, permitiu que este alcançasse produtividade similar à obtida quando submetido à dose de 100 kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 1). Apesar de não significativo estatisticamente, houve incremento de 422 kg ha<sup>-1</sup> na produtividade de grãos no tratamento 50 kg ha<sup>-1</sup> de N + inoculação, em comparação ao controle apenas com esta dose de N.

A resposta diferencial entre os genótipos à inoculação tem sido relatada na literatura, e normalmente está associada à diversidade e à atividade de microrganismos, à qualidade dos exudados radiculares e à capacidade diferencial de aquisição de nutrientes, entre outros fatores (Vacheron et al., 2013). Em trabalho com inoculação de *A. brasilense* em milho, Zemrany et al. (2006) observaram, durante 2 anos consecutivos, efeito da inoculação sobre o crescimento de raízes e o desenvolvimento de plantas, mas não houve efeito sobre a produtividade de grãos. Por sua vez, Hungria et al. (2010) relataram aumentos na produtividade de grãos de milho, quando as plantas foram inoculadas e receberam doses de 20–24 kg ha<sup>-1</sup> de N.

Na safrinha, as doses de N não tiveram efeito sobre o peso de mil grãos, nos dois genótipos (Tabela 1). Já a aplicação de N na safra teve efeito positivo sobre a variável, especialmente na dose de 50 kg ha<sup>-1</sup>, e mostrou

que o genótipo BRS 1030 foi responsivo à aplicação. Da mesma forma, esse genótipo também respondeu à aplicação de N associada à inoculação, com aumentos de 5,1 e 4,3% na variável, em comparação ao controle absoluto, na safrinha e na safra, respectivamente. Na média dos dois cultivos, o tratamento 50 kg ha<sup>-1</sup> de N + inoculação aumentou em 6,4 e 4% o peso de mil grãos, quando comparado ao controle com inoculação, nos genótipos BRS 1030 e BRS 1060, respectivamente.

Na comparação entre os genótipos, BRS 1030 apresentou grãos 21% mais pesados que BRS 1060, na média das duas safras.

Quadros et al. (2014) constataram resposta diferencial de genótipos de milho à inoculação de três estirpes de *Azospirillum*. Salomone & Döbereiner (1996) também reportaram resposta de vários genótipos de milho à inoculação de *Azospirillum* spp.

O teor de N nos grãos acompanhou os efeitos da aplicação do fertilizante, na safrinha. Na safra, somente foi observado efeito do tratamento com a maior dose de N (100 kg ha<sup>-1</sup>), em ambos os genótipos (Tabela 2). A aplicação do inoculante na ausência do fertilizante aumentou significativamente o teor de N no genótipo BRS 1060, em comparação ao controle absoluto. Na safra, como os dois genótipos responderam à maior dose de N, isso se refletiu na média dos dois cultivos.

**Tabela 1.** Produtividade de grãos e peso de mil grãos de dois genótipos de milho (*Zea mays*), na presença de doses crescentes de N e de inoculação da estirpe BR 11417 de *Herbaspirillum seropedicae*<sup>(1)</sup>.

Tratamento <sup>(2)</sup>	Safrinha		Média da safrinha	Safra		Média da safra	Acumulado dos dois cultivos <sup>(3)</sup>	
	BRS 1030	BRS 1060		BRS 1030	BRS 1060		BRS 1030	BRS 1060
	Produtividade de grãos (kg ha <sup>-1</sup> )							
Zero	7.537,48b	6.947,22	7.242,35ab	3.377,26b	3.367,36b	3.372,31C	10.914,74b	10.314,59b
Zero + I	7.377,63b	6.794,44	7.086,03b	4.217,99b	3.570,41b	3.894,20B	11.595,62b	10.364,85b
50 kg ha <sup>-1</sup> de N	7.794,88a	7.085,57	7.440,23ab	6.291,59a	6.142,47a	6.217,03A	14.086,47a	13.228,04a
50 kg ha <sup>-1</sup> de N + I	7.932,68a	7.007,10	7.469,89ab	6.575,54a	5.756,35a	6.165,95A	14.508,22a	12.763,45a
100 kg ha <sup>-1</sup> de N	7.989,53a	7.071,86	7.530,69a	6.550,69a	6.120,60a	6.335,65A	14.540,22a	13.192,46a
Média geral	7.726,44A	6.981,24B	7.353,84A	5.402,61A	4.991,44B	5.197,03B	13.129,05A	11.972,68B
CV (%)	7,17			5,44				
	Peso de mil grãos (g)							
Zero	364,76b	294,30a	329,53a	290,78cd	262,55	276,67b	327,77b	278,42ab
Zero + I	365,44b	262,58c	314,01b	280,34d	273,64	276,99b	322,89b	268,11b
50 kg ha <sup>-1</sup> de N	376,76ab	286,91a	331,84a	303,05bc	275,90	296,14a	346,57a	281,40a
50 kg ha <sup>-1</sup> de N + I	384,06a	270,88bc	327,47a	316,38ab	286,74	294,90a	343,56a	278,81a
100 kg ha <sup>-1</sup> de N	371,77ab	284,30abc	328,04a	319,76a	289,54	304,65a	345,77a	286,92a
Média geral	372,56A	279,79B	326,18A	302,06A	277,67B	289,87B	337,31A	278,73B
CV (%)	3,72			2,66				

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade. As maiúsculas comparam médias de épocas e de genótipos entre si. <sup>(2)</sup>Zero, controle absoluto, sem adição de fertilizante nitrogenado e sem inoculação; e Zero + I, controle mais inoculação da estirpe BR 11417 de *H. seropedicae*. <sup>(3)</sup>Produtividade acumulada e média do peso de mil grãos, nos dois cultivos.

O teor de N na safra foi 11% maior que na safrinha, o que evidencia um possível efeito residual da adubação nesse período.

A inoculação foi capaz de aumentar o acúmulo de N nos grãos, e igualou o tratamento 50 kg ha<sup>-1</sup> de N + inoculação ao 100 kg ha<sup>-1</sup> de N.

Quanto aos teores de fósforo, apenas o genótipo BRS 1060 respondeu significativamente aos tratamentos, com maiores valores no controle e no tratamento 100 kg ha<sup>-1</sup> de N (Tabela 3). Na média do plantio na safra, o teor de P foi maior nesses mesmos tratamentos.

No genótipo BRS 1030, a inoculação promoveu maior acúmulo de P na dose de 50 kg ha<sup>-1</sup> de N, com aumento de 100% em comparação ao controle absoluto e de 13,2%, quando comparado ao tratamento 50 kg ha<sup>-1</sup> de N sem inoculação, além de acúmulos significativamente superiores aos observados no tratamento 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. Já o híbrido BRS 1060 acumulou mais P no grão com a maior dose de N aplicada, e não foram observadas diferenças entre a inoculação e as doses de N.

Os valores de P acumulado nos grãos, para os dois genótipos, tiveram comportamento inverso ao relatado por Coelho & França (1995), que observaram que maiores produtividades de grão resultaram em menores

teores no nutriente. No presente trabalho, a safrinha, com maior produtividade, também apresentou menor acúmulo do nutriente nos grãos. Na safra, o genótipo BRS 1030 acumulou mais P no tratamento 50 kg ha<sup>-1</sup> + inoculação, 13,2% superior à mesma dose sem inoculação (Tabela 3). O fato de *H. seropedicae* atuar na solubilização de fosfato in vitro possivelmente teve implicações sobre esse resultado. Estrada et al. (2013) verificaram que diferentes estirpes do gênero são capazes de solubilizar fosfatos inorgânicos in vitro e de promover crescimento de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.). O acumulado no ano refletiu esse maior acúmulo de massa no genótipo BRS 1030 e grãos 9,3% mais ricos em P no tratamento 50 kg ha<sup>-1</sup> de N + inoculação, em comparação a apenas 50 kg ha<sup>-1</sup> de N, que permitiu a extração de 60 kg ha<sup>-1</sup> de P a mais nos grãos.

Os teores de potássio também sofreram efeitos dos tratamentos, na safra (Tabela 4). De forma geral, o genótipo BRS 1030 extraiu mais K, nas duas épocas de plantio, e apresentou grãos mais enriquecidos no elemento. Para esse genótipo, os teores de K na safra foram superiores nos tratamentos 50 kg ha<sup>-1</sup> de N, com e sem inoculação. Para o genótipo BRS 1060, houve diferença nos teores de K apenas entre doses de N.

**Tabela 2.** Teor de nitrogênio e nitrogênio total acumulado nos grãos de dois genótipos de milho (*Zea mays*), na presença de doses crescentes de N e de inoculação da estirpe BR 11417 de *Herbaspirillum seropedicae*<sup>(1)</sup>.

Tratamento <sup>(2)</sup>	Safrinha		Média da safrinha	Safra		Média da safra	Média do ano agrícola		Média geral
	BRS 1030	BRS 1060		BRS 1030	BRS 1060		BRS 1030	BRS 1060	
Teor de nitrogênio (g kg)									
Zero	11,24b	10,82b	11,03c	14,56b	12,84b	13,70b	12,90cd	11,83b	12,37c
Zero + I	10,98b	12,56ab	11,27c	13,86b	12,76b	13,31b	12,42d	12,66b	12,65c
50 kg ha <sup>-1</sup> de N	13,20a	12,78ab	12,99b	15,08b	12,72b	13,90b	14,14bc	12,75b	13,45b
50 kg ha <sup>-1</sup> de N + I	14,02a	13,20a	13,61ab	15,18b	11,64b	13,41b	14,60b	12,42b	13,51b
100 kg ha <sup>-1</sup> de N	14,90a	13,88a	14,39a	17,10a	14,96a	16,03a	16,00a	14,42a	15,21a
Média geral	12,87	12,45	12,66B	15,16A	12,98B	14,07A	14,11A	12,82B	13,36
CV (%)	10,53						7,32		
Nitrogênio acumulado (kg ha <sup>-1</sup> )									
Zero	84,56c	75,25c	79,91c	49,23c	43,27c	46,25c	133,79c	118,52c	63,08c
Zero + I	81,06c	83,80bc	82,43c	61,14c	45,84bc	53,49c	142,19c	129,64c	67,96c
50 kg ha <sup>-1</sup> de N	103,35b	90,44ab	96,90b	94,86b	78,66ab	86,76b	198,21b	169,10b	91,83b
50 kg ha <sup>-1</sup> de N + I	111,39ab	92,32ab	101,85ab	99,16ab	67,13ab	83,14b	210,55ab	159,45b	92,50b
100 kg ha <sup>-1</sup> de N	119,00a	97,98a	108,49a	111,74a	91,52a	101,63a	230,74a	189,50a	105,06a
Média geral	99,87A	87,96B	93,92B	83,23A	65,28B	74,25A	183,10A	153,24B	84,08
CV (%)	12,88						8,36		

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade. As maiúsculas comparam médias de épocas e de genótipos entre si. <sup>(2)</sup>Zero, controle absoluto, sem adição de fertilizante nitrogenado e sem inoculação; e Zero + I, controle mais inoculação da estirpe BR 11417 de *H. seropedicae*.

No plantio de verão, o tratamento 50 kg ha<sup>-1</sup> de N + inoculação acumulou 126% a mais de K que o controle absoluto, no híbrido BRS 1030. No genótipo BRS 1060, os tratamentos com N refletiram maior acúmulo de K, em comparação ao controle absoluto, mas não diferiram na presença ou não do inoculante. Os valores de K

acumulado nos grãos foram menores que os relatados por Coelho & França (1995). Vale ressaltar que, de maneira geral, houve efeito significativo da inoculação da estirpe BR 11417 de *H. seropedicae* na presença e na ausência de N fertilizante. Este comportamento mostra que a estirpe possivelmente atuou na promoção

**Tabela 3.** Teor de fósforo e fósforo total acumulado nos grãos de dois genótipos de milho (*Zea mays*), na presença de doses crescentes de N e de inoculação da estirpe BR 11417 de *Herbaspirillum seropedicae*<sup>(1)</sup>.

Tratamento <sup>(2)</sup>	Safrinha		Média da safrinha	Safrinha		Média da safra	Média do ano agrícola		Média geral
	BRS 1030	BRS 1060		BRS 1030	BRS 1060		BRS 1030	BRS 1060	
Teor de fósforo (g kg)									
Zero	2,00	2,29	2,15	6,67	6,08a	6,37a	4,33	4,18a	4,26a
Zero + I	2,01	2,01	2,01	6,11	5,26b	5,68b	4,06	3,63bc	3,85b
50 kg ha <sup>-1</sup> de N	1,97	1,88	1,92	6,28	4,67b	5,47b	4,13	3,27c	3,70b
50 kg ha <sup>-1</sup> de N + I	1,92	1,86	1,89	6,83	4,60b	5,71b	4,37	3,23c	3,80b
100 kg ha <sup>-1</sup> de N	1,77	1,77	1,77	6,07	6,07a	6,07ab	3,92	3,92ab	3,92ab
Média geral	1,93	1,96	1,95B	6,39A	5,33B	5,86A	4,16A	3,65B	3,90
CV (%)	15,38						10,03		
Fósforo acumulado (kg ha <sup>-1</sup> )									
Zero	15,07	15,95	15,51	22,47c	20,42c	21,44c	37,54c	36,37bc	18,48b
Zero + I	14,80	13,65	14,23	25,67c	19,44c	22,56c	40,48c	33,09c	18,39b
50 kg ha <sup>-1</sup> de N	15,34	13,27	14,31	39,52b	28,73b	34,12b	54,86b	42,00b	24,22a
50 kg ha <sup>-1</sup> de N + I	15,24	13,02	14,13	44,74a	26,50b	35,62ab	59,98a	39,52b	24,87a
100 kg ha <sup>-1</sup> de N	14,14	12,53	13,34	39,58b	37,21a	38,40a	53,73b	49,74a	25,87a
Média geral	14,92	13,69	14,30B	34,40A	26,46B	30,43A	49,32	40,15	22,37
CV (%)	15,07						10,74		

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade. As maiúsculas comparam médias de épocas e de genótipos entre si. <sup>(2)</sup>Zero, controle absoluto, sem adição de fertilizante nitrogenado e sem inoculação; e Zero + I, controle mais inoculação da estirpe BR 11417 de *H. seropedicae*.

**Tabela 4.** Teor de potássio e potássio total acumulado nos grãos de dois genótipos de milho (*Zea mays*), na presença de doses crescentes de N e de inoculação da estirpe BR 11417 de *Herbaspirillum seropedicae*<sup>(1)</sup>.

Tratamento <sup>(2)</sup>	Safrinha		Média da safrinha	Safrinha		Média da safra	Média do ano agrícola		Média geral
	BRS 1030	BRS 1060		BRS 1030	BRS 1060		BRS 1030	BRS 1060	
Teor de potássio (g kg)									
Zero + I	3,22	2,81	3,02	9,65ab	7,88b	8,76	6,44	5,35bc	5,89
50 kg ha <sup>-1</sup> de N	3,07	2,74	2,91	10,50a	7,70b	9,10	6,79	5,22bc	6,00
50 kg ha <sup>-1</sup> de N + I	3,00	2,61	2,80	10,63a	7,31b	8,97	6,81	4,96c	5,89
100 kg ha <sup>-1</sup> de N	2,77	2,56	2,67	10,05ab	8,94a	9,49	6,41	5,75ab	6,08
Média geral	3,03A	2,81B	2,92B	9,99A	8,19B	9,09A	6,51	5,50	6,01
CV (%)	13,67						9,35		
Potássio acumulado (kg ha <sup>-1</sup> )									
Zero	23,39	23,23	23,31	30,86c	30,25c	30,56c	54,25c	53,48cd	26,93b
Zero + I	23,76	19,09	21,43	40,59b	28,82c	34,71b	64,35b	47,91d	28,07b
50 kg ha <sup>-1</sup> de N	23,93	19,44	21,69	66,06a	47,47b	56,77a	89,99a	66,91ab	39,23a
50 kg ha <sup>-1</sup> de N + I	23,76	18,27	21,01	69,63a	42,01b	55,82a	93,39a	60,28bc	38,42a
100 kg ha <sup>-1</sup> de N	22,15	18,12	20,13	65,80a	54,80a	60,30a	87,95a	72,91a	40,22a
Média geral	23,40A	19,63B	21,51B	54,59A	40,67B	47,63A	77,99	60,30	34,57
CV (%)	16,02						10,81		

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem a 5% de probabilidade. As maiúsculas comparam médias de épocas e de genótipos entre si. <sup>(2)</sup>Zero, controle absoluto, sem adição de fertilizante nitrogenado e sem inoculação; e Zero + I, controle mais inoculação da estirpe BR 11417 de *H. seropedicae*.

de crescimento (Pérez-Montañó et al., 2014), mas não como fixadora de nitrogênio. Outro mecanismo associado à maior absorção de nutrientes com a inoculação é a acidificação da rizosfera, pela produção de ácidos orgânicos ou pela estimulação da bomba de prótons (Pérez-Montañó et al., 2014).

### Conclusão

A inoculação de *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe BR 11417, favorece o acúmulo de P nos grãos, mas tem efeito positivo sobre a produtividade somente em combinação com doses de N mineral, o que indica que seu efeito é mais destacado na promoção do crescimento do que da fixação biológica de N.

### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processo 573828/2008-3) e à Embrapa (processo 01.09.01.001.04), pelo apoio financeiro; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao CNPq, pelas bolsas de estudo e de produtividade concedidas; e à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pela capacitação recebida pelo primeiro autor.

### Referências

- ALVES, G.C.; VIDEIRA, S.S.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M. Differential plant growth promotion and nitrogen fixation in two genotypes of maize by several *Herbaspirillum* inoculants. **Plant and Soil**, v.387, p.307-321, 2015. DOI: 10.1007/s11104-014-2295-2.
- 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**, v.36, p.86-93, 1986. DOI: 10.1099/00207713-36-1-86.
- 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 and Soil**, v.384, p.413-431, 2014. DOI: 10.1007/s11104-014-2186-6.
- BHATTACHARYYA, P.N.; JHA, D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.28, p.1327-1350, 2012. DOI: 10.1007/s11274-011-0979-9.
- BREMNER, J.M.; MULVANEY, R.L. Urease activity in soils. In: BURNS, R.G. (Ed.). **Soil enzymes**. London: Academic Press, 1978. p.149-196.
- CARMO, C.A.F. de S. do; ARAÚJO, W.S. de; BERNARDI, A.C.C.; SALDANHA, M.S. **Métodos de análise de tecidos**

**vegetais utilizados na Embrapa Solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2000. 41p. (Embrapa Solos. Circular técnica, 6).

COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E. de. Nutrição e adubação. In: COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E. de. **Seja o doutor do seu milho**. 2.ed. Piracicaba: Potafos, 1995. p.1-9. (POTAFOS. Arquivo do Agrônomo, 2).

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V.F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, p.1023-1029, 2013. DOI: 10.1590/S1415-43662013001000001.

ESTRADA, G.A.; BALDANI, V.L.D.; OLIVEIRA, D.M. de; URQUIAGA, S.; BALDANI, J.I. Selection of phosphate-solubilizing diazotrophic *Herbaspirillum* and *Burkholderia* strains and their effect on rice crop yield and nutrient uptake. **Plant and Soil**, v.369, p.115-129, 2013. DOI: 10.1007/s11104-012-1550-7.

EUCLYDES, R.F. **Sistema de análises estatísticas e genéticas** – SAEG. Viçosa: UFV, 1983. 68p.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *Lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v.331, p.413-425, 2010. DOI: 10.1007/s11104-009-0262-0.

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

PÉREZ-MONTAÑO, F.; ALÍAS-VILLEGAS, C.; BELLOGÍN, R.A.; CERRO, P. del; ESPUNY, M.R.; JIMÉNEZ-GUERRERO, I.; LÓPEZ-BAENA, F.J.; OLLERO, F.J. CUBO, T. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. **Microbiological Research**, v.169, p.325-336, 2014. DOI: 10.1016/j.micres.2013.09.011.

QUADROS, P.D. de; ROESCH, L.F.W.; SILVA, P.R.F. da; VIEIRA, V.M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F.A. de O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v.61, p.209-218, 2014. DOI: 10.1590/S0034-737X2014000200008.

REIS, V.M. Inoculantes contendo bactérias fixadoras de nitrogênio para aplicação em gramíneas. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 27.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 11.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 9.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 6., 2006, Bonito. **A busca das raízes**: anais. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 82). 1 CD ROM.

SALOMONE, I.G. de; DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology and Fertility of Soils**, v.21, p.193-196, 1996. DOI: 10.1007/BF00335934.

SUBEDI, K.D.; MA, B.L. Assessment of some major yield-limiting factors on maize production in a humid temperate environment. **Field Crops Research**, v.110, p.21-26, 2009. DOI: 10.1016/j.fcr.2008.06.013.

VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M.-L.; TOURAINÉ, B.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.;

MULLER, D.; LEGENDRE, L.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; PRIGENT-COMBARET, C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in Plant Science**, v.4, article 356, 2013. DOI: 10.3389/fpls.2013.00356.

ZEMRANY, H.E.; CORTET, J.; LUTZ, M.P.; CHABERT, A.; BAUDOIN, E.; HAURAT, J.; MAUGHAN, N.; FÉLIX, D.;

DÉFAGO, G.; BALLY, R.; MOËNNE-LOCCOZ, Y. Field survival of the phytostimulator *Azospirillum lipoferum* CRT1 and functional impact on maize crop, biodegradation of crop residues, and soil faunal indicators in a context of decreasing nitrogen fertilisation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.38, p.1712-1726, 2006. DOI: 10.1016/j.soilbio.2005.11.025.

---

Recebido em 20 de fevereiro de 2015 e aprovado em 23 de novembro de 2015