

Identificação de cultivares de milho eficientes na absorção de nitrogênio e na associação com bactérias diazotróficas

Identification of maize cultivars efficient in nitrogen uptake and diazotrophic bacteria association

Luiz Fernando Roesch¹ Flávio Camargo² Pedro Selbach²
Enilson Saccol de Sá² Luciane Passaglia³

- NOTA -

RESUMO

Cultivares adaptados a ambientes pobres em nitrogênio e capazes de se associar com bactérias diazotróficas podem representar uma alternativa para a produção do milho em sistemas agrícolas com baixa utilização de insumos. Visando identificar cultivares de milho eficientes na absorção de nitrogênio e na associação com bactérias diazotróficas foi conduzido um experimento em vasos avaliando-se 32 cultivares de milho em diferentes doses de N aplicado ao solo. A ocorrência de elevada população de bactérias diazotróficas e a baixa resposta à adubação nitrogenada juntamente com o maior acúmulo de N quando não foi aplicado nitrogênio no solo, indicaram que o cultivar Santa Helena 8447 pode ser promissor para futuros estudos de seleção de cultivares eficientes para cultivo em solos de baixa fertilidade.

Palavras-chave: bactérias fixadoras de nitrogênio, *Zea mays*.

ABSTRACT

Cultivars adapted to environments poor in nitrogen and capable to associate with diazotrophic bacteria can represent an alternative for the production of maize in agricultural systems which uses few amounts of fertilizers. Aiming at identifying efficient maize cultivars in nitrogen uptake and diazotrophic bacteria association an experiment was carried out with 32 maize cultivars under different doses of nitrogen. The highest detection of diazotrophic population, the smallest

effect of N fertilization and the highest nitrogen content under no nitrogen fertilization can indicate that Santa Helena 8447 may be a promising cultivar to be used in further studies to select efficient cultivars for cultivation in soils of low fertility.

Key words: nitrogen fixing bacteria, *Zea mays*.

A produtividade da maioria das plantas cultivadas tem sido garantida pela utilização de quantidades substanciais de fertilizantes nitrogenados. Porém, o uso excessivo destes fertilizantes representa riscos de contaminação ambiental e aumento nos custos de produção.

Cultivares adaptados a ambientes pobres em nitrogênio e capazes de se associar a bactérias diazotróficas, podem representar uma alternativa ecologicamente sustentável e economicamente viável para a produção do milho em sistemas agrícolas com baixa utilização de insumos. Entretanto, o melhoramento genético é geralmente conduzido com a aplicação de quantidades elevadas de N (KAMPRATH et al., 1982). O uso de elevados níveis deste nutriente durante o desenvolvimento dos cultivares híbridos pode levar à seleção de genótipos

¹Curso de Pós-graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: luizroesch@via-rs.net. Autor para correspondência.

²Departamento Solos, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

³Departamento de Genética, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

que apresentem consumo de luxo de N ou requeiram elevadas doses deste nutriente para expressarem seu potencial produtivo (CARLONE & RUSSEL, 1987). Por outro lado, os baixos níveis de N podem contribuir naturalmente para a seleção de genótipos eficientes na fixação biológica do nitrogênio (BODDEY et al., 1995) a qual pode representar diminuição na necessidade de fertilização nitrogenada.

Com o presente estudo, objetivou-se identificar diferentes cultivares de milho eficientes na absorção de nitrogênio e na associação com bactérias diazotróficas.

Foi realizado um experimento em vasos, onde foram avaliados 32 cultivares de milho (Tabela 1) atualmente recomendados para o Estado do Rio Grande do Sul. Para a confecção dos vasos, foram utilizadas amostras do horizonte superficial de um solo classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico arênico (EMBRAPA, 1999), com pH (H₂O) 5,0 e que continha: 130g kg⁻¹ de argila; 5g kg⁻¹ de matéria orgânica; 2,9mg L⁻¹ de fósforo trocável; 19mg L⁻¹ de potássio trocável; 0,2cmol_c L⁻¹ de alumínio trocável; 0,5cmol_c L⁻¹ de cálcio trocável; 0,3 cmol_c L⁻¹ de magnésio trocável; 1,6cmol_c L⁻¹ de hidrogênio + alumínio; 2,4cmol_c L⁻¹ de capacidade de troca de cátions e 35% de saturação por bases. Este solo foi peneirado (malha 10mm), seco ao ar e acondicionado em vasos com capacidade para 2L na quantidade de 1,8kg de solo por vaso.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições, e foram aplicados diferentes níveis de adubação nitrogenada na forma de uréia: T1- testemunha sem adubação nitrogenada; T2- 50% da dose recomendada de nitrogênio (90mg de N por vaso) e T3- 100% da dose recomendada de nitrogênio para uma produtividade esperada acima de seis toneladas por hectare (180mg de N por vaso). A adubação foi realizada com base nas análises física e química do solo e na Recomendação de Adubação e Calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO-RS/SC, 1995). Os fertilizantes foram aplicados, por meio da adição de solução nutritiva, em quantidades correspondentes a 43mg de P₂O₅ e 97mg de K₂O por vaso na forma de KH₂PO₄.

Foram semeadas 10 sementes de cada cultivar por vaso e, cinco dias após a emergência, foi realizado o desbaste, mantendo-se duas plantas por vaso. Os vasos foram mantidos em área aberta e irrigados diariamente, mantendo-se o solo em 80% da capacidade de campo. Aos 45 dias após a emergência, foi efetuada a colheita da parte aérea das plantas de todos os tratamentos. A matéria seca da parte aérea

dos cultivares de milho foi analisada quanto ao conteúdo de nitrogênio total determinado a partir da digestão sulfúrica do tecido vegetal (TEDESCO et al., 1995).

Para a verificação da presença de bactérias diazotróficas no solo, foram amostrados 10g de solo de cada vaso sem adubação nitrogenada após o cultivo do milho. Estas amostras foram homogeneizadas em 90mL de solução salina (NaCl 1%) e diluídas serialmente até a diluição 10⁻³. Uma alíquota de 100μL da maior diluição da suspensão de solo de cada cultivar foi inoculada, em triplicata, nos meios de enriquecimento NFb e JNFb semi-sólidos utilizados no isolamento de *Azospirillum* spp. e *Herbaspirillum* spp., respectivamente (DÖBEREINER et al., 1995).

Os dados obtidos foram avaliados pelo teste de comparação de médias, Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro por meio do software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

Os resultados obtidos pela análise de N total no tecido dos cultivares de milho, eficiência de absorção de N e presença de bactérias diazotróficas podem ser observados na tabela 1. A adubação nitrogenada afetou significativamente o conteúdo de N total de todos cultivares testados. Entre esses, destacou-se o híbrido duplo Santa Helena 8447 que apresentou o maior acúmulo de N no tecido (9,26mg planta⁻¹) quando não foi aplicado nitrogênio (cerca de 28% do conteúdo de N acumulado quando foi aplicada a dose máxima de N e cerca de duas vezes mais N acumulado em relação aos demais cultivares) (Tabela 1). Quando foi aplicado 100% da dose de N recomendada, o cultivar Santa Rosa 3063 apresentou a maior resposta à adubação nitrogenada (83,61 mg de N planta⁻¹).

A eficiência relativa de absorção de N variou entre os cultivares testados e as doses de N aplicadas (Tabela 1). O germoplasma de milho é constituído por raças crioulas, populações adaptadas e materiais introduzidos sendo caracterizado por uma ampla variabilidade genética. Esta variabilidade é um dos principais fatores que podem interferir na eficiência de uso do nitrogênio (MAJEROWICZ et al., 2002). Entre os cultivares que apresentaram baixa eficiência de absorção de N, destacaram-se Pop. LM 9275 e Santa Helena 8447 (12% e 14%, respectivamente) quando foi aplicado 100% da dose de N. Os mesmos cultivares apresentaram elevada população de bactérias diazotróficas. Para CHOTTE et al. (2002), em solos com deficiência de N, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) pode ser explorada para suprir a carência deste nutriente no solo e a ocorrência de microrganismos diazotróficos em números elevados

Tabela 1- Conteúdo de nitrogênio total no tecido da parte aérea, eficiência de uso de N de cultivares de milho em função de doses de nitrogênio aplicadas e meios de enriquecimento NFb e JNFb com crescimento bacteriano (+) ou sem crescimento bacteriano (-) inoculados com suspensão de solo, coletado após o cultivo, em três repetições.

Cultivar	Conteúdo total de N						Eficiência de uso de N		Meios de enriquecimento					
	Dose de N aplicada mg / vaso						90	180	NFb			JNFb		
	0	90	180	90	180	90			180	90	180	90	180	
-----mg planta ⁻¹ -----						----- % -----								
Polinização aberta														
Taquarão	6,57	Cc	25,91	Bb	43,80	Ba	21	21	+	+	+	+	+	+
Nitroflint	4,29	Fc	24,61	Bb	38,61	Ca	23	19	+	+	-	+	-	-
Pop. LM 9275	4,66	Fc	20,27	Cb	25,49	Ea	17	12	+	+	-	+	+	+
Pop. Assis Brasil	4,41	Fc	16,68	Db	35,99	Ca	14	18	+	+	+	+	+	-
RS 20	4,46	Fc	24,61	Bb	38,59	Ca	22	19	+	+	-	+	+	+
Pop. Charrua	6,08	Cc	22,85	Cb	51,39	Ba	19	25	+	+	+	+	-	-
Vencedor AL 25	5,06	Ec	22,29	Cb	38,84	Ca	19	19	+	+	+	+	-	-
CEP 304/Fundacep	6,45	Cc	24,53	Bb	47,28	Ba	20	23	+	+	+	+	+	-
Médias	5,24		22,71		39,99		19	20						
Híbrido simples														
NB 3047	5,34	Ec	29,20	Ab	39,17	Ca	27	19	+	-	-	+	+	-
Milho Doce /Agristar	7,28	Bc	29,88	Ab	34,13	Da	25	15	+	-	-	+	+	-
Agrocerec 1225	7,01	Bc	25,28	Bb	45,95	Ba	20	22	+	-	-	+	+	-
Santa Rosa 3063	4,29	Fc	29,68	Ab	83,61	Aa	28	44	+	-	-	+	+	-
Santa Rosa 3081	5,46	Ec	20,99	Cb	44,13	Ba	17	21	+	+	+	+	+	-
Pioneer 3041	7,35	Bc	25,24	Bb	36,52	Ca	20	16	+	+	-	+	+	+
Pioneer 3069	7,27	Bc	27,81	Ab	44,28	Ba	23	21	+	-	-	+	+	-
Pioneer 30K75	7,42	Bc	20,90	Cb	48,08	Ba	15	23	+	+	+	+	-	-
Pioneer 30F88	5,92	Dc	28,23	Ab	44,10	Ba	25	21	+	+	-	+	+	+
Pioneer 30F80	4,89	Fc	25,24	Bb	39,91	Ca	23	19	+	-	-	+	+	+
Pioneer 30F33	5,61	Dc	23,88	Bb	37,31	Ca	20	18	+	+	-	+	+	-
Pioneer 3072	5,23	Ec	20,39	Cb	36,26	Ca	17	17	+	+	+	+	+	-
Pioneer 30R07	4,64	Fc	20,81	Cb	34,36	Da	18	17	+	+	+	+	+	-
Pioneer 32R21	6,49	Cc	26,48	Bb	39,27	Ca	22	18	+	-	-	+	+	-
Média	6,01		25,28		43,36		21	21						
Híbrido duplo														
AS 523/Agroeste	4,35	Fc	26,01	Bb	42,21	Ba	24	21	+	+	+	+	+	-
Cargil 929	5,44	Ec	17,38	Db	36,72	Ca	13	17	+	-	-	+	+	+
Santa Helena 40-40	5,28	Ec	23,61	Bb	42,09	Ba	20	20	+	+	+	+	+	+
Cargil 511 A	7,25	Bc	22,46	Cb	33,95	Da	17	15	+	-	-	+	+	-
Santa Helena 8447	9,26	Ac	21,31	Cb	33,57	Da	13	14	+	+	+	+	+	+
Média	6,31		22,15		37,70		17	17						
Híbrido triplo														
Santa Helena 50-50	5,14	Ec	23,89	Bb	42,19	Ba	21	21	+	+	+	+	+	-
Pioneer 3027	6,55	Cc	25,31	Bb	37,84	Ca	21	17	+	+	+	+	+	-
Pioneer 3063	5,18	Ec	27,03	Ab	48,99	Ba	24	24	+	-	-	+	-	-
Pioneer 3232	4,61	Fc	18,97	Db	43,40	Ba	16	22	+	+	+	+	+	-
Pioneer 3071	6,45	Cc	25,50	Db	45,48	Da	21	22	+	+	-	+	+	+
Média	5,58		24,14		43,58		21	21						
Média geral	5,80		23,97		41,67		20	20						
CV (%)	4,04		8,52		9,63		18	25						

Médias não seguidas da mesma letra maiúscula na coluna diferem significativamente entre cultivares e médias não seguidas da mesma letra minúscula na linha diferem significativamente entre tratamentos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

representa um importante papel para que a FBN seja efetiva. Assim, a detecção de elevada população de diazotróficos nos cultivares Pop.LM 9275 e Santa Helena 8447, pode ser indicativo de que a FBN foi mais eficiente nesses cultivares e que os mesmos apresentaram maior eficiência na associação com bactérias diazotróficas. Entre os cultivares que apresentaram alta eficiência de absorção de N destacaram-se Santa Rosa 3063, Pop. Charrua e Pionner 3063 que apresentaram eficiências de 44%, 25% e 24%, respectivamente, quando foi aplicado 100% da dose de N. Tais cultivares apresentaram baixos números populacionais de bactérias diazotróficas observado pelo número reduzido de tubos com crescimento positivo em ambos os meios de enriquecimento testados (Tabela 1).

Não foram detectadas bactérias diazotróficas antes do cultivo de milho, entretanto pode-se detectar a presença destes microrganismos no solo após o cultivo em todos os cultivares testados. Geralmente, a sobrevivência de bactérias diazotróficas na ausência de plantas é baixa, principalmente para espécies como *Herbaspirillum seropedicae* (OLIVARES et al., 1996). Para *H. seropedicae*, OLIVARES et al. (1996) observaram que este microrganismo apresentou uma baixa sobrevivência no solo não cultivado. Entretanto, os mesmos autores reisolaram a bactéria do solo, quando este foi semeado com sementes de sorgo desinfestadas superficialmente. Este resultado indica que a população de bactérias diazotróficas pode ter sido estimulada pela presença das plantas, e conseqüentemente, elevado a quantidade de células no solo para níveis detectáveis pela técnica utilizada ou que a bactéria estava presente no interior da semente desinfestada de sorgo.

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que a ocorrência de elevada população de bactérias diazotróficas e a baixa resposta à adubação nitrogenada juntamente com um grande acúmulo de N em condições de baixa fertilidade podem indicar que o cultivar 8447 pode ser promissor para futuros estudos de seleção de cultivares eficientes para cultivo em solos com baixa disponibilidade de nitrogênio.

REFERÊNCIAS

- BODDEY, R.M. et al. Biological nitrogen fixation associated with sugarcane and rice: contributions and prospects for improvement. **Plant and Soil**, v.174, p.195-209, 1995.
- CARLONE, M.R.; RUSSEL, W.A. Response to plant densities and nitrogen levels for four maize cultivars from different eras of breeding. **Crop Science**, v.27, n.2, p.465-470, 1987.
- CHOTTE, J. L. et al. Changes in bacteria communities and *Azospirillum diversity* in soil fraction of a tropical soil under 3 or 19 years of natural fallow. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford v.34, p.1083-1092, 2002.
- COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC, **Recomendações de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. Passo Fundo: SBCS – Núcleo Regional Sul, EMBRAPA/CNPT, 1995. 223p.
- DÖBEREINER, J. et al. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas**. Brasília : Embrapa-SPI, 1995. 60p.
- EMBRAPA-CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOLOS. **Sistema Brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro : Embrapa, 1999. 412p.
- FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Programa e resumos...** São Carlos : Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 2000. 1996. V.45. p.255-258.
- KAMPRATH, E.J. et al. Effects of nitrogen fertilization and recurrent selection on performance of hybrids populations of corn. **Agronomy Journal**, v.74, n.6, p.955-958, 1982.
- MAJEROWICZ, N. et al. Estudo da eficiência de uso do nitrogênio em variedades locais e melhoradas de milho. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, n.2, p.129-136, 2002.
- OLIVARES, F.L. et al. Occurrence of the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* spp. in roots, stems and leaves predominantly of Gramineae. **Biology and Fertility of Soils**, v.21, p.197-200, 1996.
- TEDESCO, M.J. et al. **Análise de solo plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre : Departamento de Solos da UFRGS, 1995. 174p.