

Inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na cultura do milho

Marina Freitas e Silva⁽¹⁾; Thays Vieira Bueno⁽²⁾; Gilmar Dantas da Silva⁽³⁾; Luciana Santos Araújo⁽¹⁾; Wender Santos Rezende⁽⁴⁾; Ricardo Camara Werlang⁽⁵⁾; Césio Humberto de Brito⁽⁶⁾.

⁽¹⁾Graduanda em Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia; marinafreitas.agro@hotmail.com; ⁽²⁾Mestranda em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa; ⁽³⁾Pesquisador, Syngenta Brasil; ⁽⁴⁾Doutorando em Genética e Melhoramento, Universidade Federal de Viçosa; ⁽⁵⁾Pesquisador; ⁽⁶⁾Docente, Universidade Federal de Uberlândia.

RESUMO: A cultura do milho apresenta alta demanda de nitrogênio (N), que é suprida principalmente por fertilizantes nitrogenados. Uma forma alternativa de fornecimento é a fixação biológica de nitrogênio, realizada no milho principalmente por bactérias do gênero *Azospirillum*. Este trabalho teve com objetivo avaliar o uso de *Azospirillum brasilense*, com diferentes números de aplicação, e doses de fertilizante nitrogenado na cultura do milho, em condições de campo. Foram conduzidos dois experimentos em Uberlândia – MG, um com adubação de 120 kg ha⁻¹ de N e outro com 180 kg ha⁻¹ de N. Os tratamentos foram (1) testemunha (sem aplicação de *A. brasilense*); (2) uma aplicação de *A. brasilense* via tratamento de sementes; e (3) duas aplicações de *A. brasilense*, via tratamento de sementes e pulverização no estádio V₄. As estirpes aplicadas foram Ab-V5 e Ab-V6 da espécie *A. brasilense*. Avaliaram-se densidade de plantas, porcentagem de plantas acamadas, altura de espiga e produtividade de grãos. Durante parte do período do experimento foi observado um severo déficit hídrico, além de altas temperaturas. Em ambos os experimentos não foram verificadas diferenças quanto à densidade de plantas, porcentagem de plantas acamadas e produtividade. No experimento com aplicação de 120 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense*, com uma ou duas aplicações, proporcionou maior altura de inserção de espiga. Conclui-se que *A. brasilense* pode incrementar o desenvolvimento vegetativo de plantas de milho. Porém, em condições de deficiência hídrica e altas temperaturas sua atividade é comprometida, não sendo eficiente em incrementar a produtividade da cultura.

Termos de indexação: *Zea mays* L.; nutrição; fixação biológica de nitrogênio.

O nitrogênio (N) é um nutriente essencial e um dos mais demandados pela cultura do milho. Esse elemento desempenha diversas funções vitais nas plantas. Por exemplo, é ativador enzimático e faz parte da estrutura de proteínas e DNA. Para cada tonelada de grãos de milho produzida, estima-se que é necessário cerca de 20 kg de nitrogênio (Faria, 2014).

O fornecimento de nitrogênio na cultura do milho é feito principalmente a partir de fertilizantes minerais nitrogenados, que apresentam alto custo e normalmente perdas por volatilização ou lixiviação (Lara Cabezas & Souza, 2008; Morais, 2012).

Uma das alternativas para reduzir a dependência dos fertilizantes nitrogenados é o uso da fixação biológica de nitrogênio. A fixação é realizada por bactérias diazotróficas, que possuem o complexo enzimático da nitrogenase, responsável pela conversão do nitrogênio atmosférico (N₂) em amônia (NH₃) (Hungria, 2011).

Na cultura do milho, muitos estudos têm demonstrado a eficiência de bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* em aumentar a produtividade e outros caracteres agrônômicos (Reis Junior et al., 2008; Morais, 2012; Ferreira et al., 2013; Araújo et al., 2014). As bactérias desse gênero também são consideradas promotoras do crescimento vegetal, pois produzem diversas substâncias benéficas à planta, como auxinas e giberelinas, que, por sua vez, promovem diversas respostas fisiológicas, como estímulo ao crescimento radicular (Hungria, 2011; Dartora et al., 2013).

Visto isso, este trabalho teve com objetivo avaliar o uso de *Azospirillum brasilense*, com diferentes números de aplicação, e doses de fertilizante nitrogenado na cultura do milho, em condições de campo.

MATERIAL E MÉTODOS

INTRODUÇÃO

Foram realizados dois experimentos em campo no ano agrícola 2014/2015, com diferentes doses de fertilizante nitrogenado. No Experimento 1, a adubação nitrogenada foi de 120 kg ha⁻¹ de N, e no Experimento 2 foi de 180 kg ha⁻¹. Os experimentos foram conduzidos na Fazenda Horizonte (18°55'08" S, 48°03'45" O, a 850 m de altitude), em Uberlândia – MG. Os valores de precipitação pluviométrica e temperaturas máxima e mínima durante os experimentos estão apresentados na **Figura 1**.

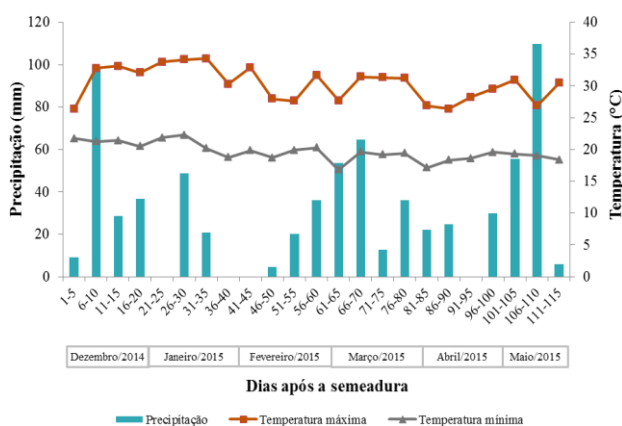


Figura 1 – Precipitação pluviométrica e temperaturas máxima e mínima durante o período de condução dos experimentos (05/12/2014 a 23/05/2015) em Uberlândia – MG. Fonte: Laboratório de Climatologia e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Uberlândia.

Os experimentos diferiram apenas quanto à adubação nitrogenada. Ou seja, os tratamentos, o delineamento, a condução e as avaliações foram idênticos.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com três tratamentos e 12 repetições por experimento. Os tratamentos foram: (1) testemunha, sem aplicação de *A. brasilense*; (2) uma aplicação de *A. brasilense*, via tratamento de sementes (TS); (3) duas aplicações de *A. brasilense*, sendo a primeira via tratamento de sementes e a segunda pulverização no estágio vegetativo V₄ (TS + V₄).

Para compor os tratamentos com *A. brasilense*, utilizou-se inoculante contendo as estirpes Ab-V5 e Ab-V6, com concentração mínima de 2x10⁸ UFC mL⁻¹. A dose de inoculante utilizada no tratamento de sementes foi de 100 mL 100 kg⁻¹ de sementes. As sementes também foram tratadas com o inseticida thiamethoxam (42 g i.a. por 60000 sementes). No tratamento 3 (TS + V₄), pulverizou-se no estágio V₄ do milho o mesmo inoculante, na dose de 300 mL ha⁻¹.

As parcelas experimentais foram constituídas por seis linhas de 4,2 m, espaçadas por 0,6 m, sendo as quatro linhas centrais consideradas como parcela útil. Portanto, totalizaram-se 10,08 m² de área útil em cada parcela.

Foi utilizado o híbrido de milho DKB 290 VT PRO 3, e o manejo cultural buscou a expressão do seu potencial produtivo. A semeadura foi realizada em 05 de dezembro de 2014.

Em ambos os experimentos foram aplicados, em semeadura, 40 kg ha⁻¹ de K₂O e 120 kg ha⁻¹ de P₂O₅. Em cobertura, foram aplicados 110 kg ha⁻¹ de K₂O. No Experimento 1, a adubação nitrogenada foi dividida em 60 kg ha⁻¹ de N em semeadura e 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura, totalizando 120 kg ha⁻¹ de N. No Experimento 2, a adubação nitrogenada foi dividida em 60 kg ha⁻¹ de N em semeadura e 120 kg ha⁻¹ de N em cobertura, totalizando 180 kg ha⁻¹ de N. O fertilizante nitrogenado utilizado em todas as aplicações foi a ureia. Na adubação de cobertura os fertilizantes foram incorporados ao solo.

Foram avaliadas as seguintes características: densidade de plantas, porcentagem de plantas acamadas, altura de espiga e produtividade de grãos.

A densidade de plantas foi avaliada contando-se todas as plantas da parcela útil e extrapolando-se para número de plantas por hectare.

O número de plantas acamadas foi avaliado contando-se o número de plantas tombadas ou com o colmo quebrado abaixo da espiga. Posteriormente, calculou-se a porcentagem que as plantas acamadas representavam na parcela útil.

Para a avaliação da altura de espiga, determinou-se com régua graduada a altura do solo até a inserção da espiga principal de cinco plantas representativas da parcela.

A produtividade foi obtida a partir dos valores de pesos das parcelas, transformados para kg ha⁻¹, com umidade corrigida para 13%.

Os dados de cada experimento foram submetidos à análise da variância pelo teste F a 0,05 de significância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 0,05 de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A densidade de plantas foi igual para todos os tratamentos, em ambos os experimentos (**Tabela 1**). Sabe-se que o rendimento de grãos da cultura do milho é altamente influenciado pelo número de plantas por área (Sangoi et al., 2005). Por isso, é fundamental que, em geral, nos experimentos não haja diferenças em relação à densidade de plantas, para que não haja favorecimento de determinados tratamentos.

Não houve diferenças quanto à porcentagem de plantas acamadas em ambos os experimentos. No entanto, essa porcentagem foi muito pequena em todos os tratamentos, o que dificulta conclusões a respeito dessa característica.

No Experimento 1 a aplicação de *A. brasilense* promoveu aumento na altura da inserção da espiga (**Tabela 2**). Devido à capacidade das bactérias do gênero *Azospirillum* em fixar o nitrogênio atmosférico, pode ter havido maior disponibilidade desse nutriente para as plantas com a inoculação. Plantas de milho, com maior suprimento de nitrogênio apresentam maior desenvolvimento vegetativo e, conseqüentemente, maior altura de planta e altura de espiga (Soratto et al., 2010). Além disso, a produção de fitormônios por *A. brasilense*, como auxinas, também pode ter contribuído para o aumento da altura da espiga nas plantas inoculadas.

Tabela 1 – Densidade de plantas e porcentagem de plantas acamadas em função da aplicação de *A. brasilense* e de doses de nitrogênio na cultura do milho¹.

Tratamentos	Densidade de plantas (mil plantas ha ⁻¹)	Plantas acamadas (%)
<i>Experimento 1 (120 kg ha⁻¹ de N)</i>		
Testemunha	62,00 a	2,60 a
<i>A. brasilense</i> (TS)	60,83 a	0,94 a
<i>A. brasilense</i> (TS + V ₄)	60,58 a	2,65 a
CV (%)	7,03	165,81
<i>Experimento 2 (180 kg ha⁻¹ de N)</i>		
Testemunha	61,58 a	2,67 a
<i>A. brasilense</i> (TS)	61,67 a	2,88 a
<i>A. brasilense</i> (TS + V ₄)	61,25 a	3,21 a
CV (%)	5,27	116,75

¹ Médias seguidas por letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

Tabela 2 – Altura de inserção de espiga e produtividade de grãos da cultura milho em função da aplicação de *A. brasilense* e de doses de nitrogênio¹.

Tratamentos	Altura de espiga (m)	Produtividade (kg ha ⁻¹)
<i>Experimento 1 (120 kg ha⁻¹ de N)</i>		
Testemunha	0,89 b	9870,20 a
<i>A. brasilense</i> (TS)	0,93 a	10121,80 a
<i>A. brasilense</i> (TS + V ₄)	0,94 a	9940,00 a
CV (%)	4,02	10,24
<i>Experimento 2 (180 kg ha⁻¹ de N)</i>		
Testemunha	0,91 a	9840,40 a

<i>A. brasilense</i> (TS)	0,92 a	9831,30 a
<i>A. brasilense</i> (TS + V ₄)	0,94 a	9593,30 a
CV (%)	4,38	7,37

¹ Médias seguidas por letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

No Experimento 2 não foi verificada diferenças em relação à altura da espiga. Porém, o suprimento mineral de nitrogênio foi maior, possivelmente sendo suficiente para o pleno crescimento das plantas.

A aplicação de *A. brasilense* não influenciou a produtividade de grãos, em ambos os experimentos. Em contrapartida, muitos trabalhos têm mostrado a eficiência da inoculação com bactérias desse gênero em promover incrementos de produtividade, mesmo na presença de altas doses de nitrogênio (Morais, 2012; Sá Júnior, 2012; Araújo et al., 2014; Müller et al., 2015).

Contudo, variações no ambiente, no solo, nas plantas e nos componentes da microbiota podem justificar o fato de alguns experimentos não apresentarem eficiência de *A. brasilense* (Dobbelaere et al., 2001; Diaz-Zorita, 2012; Morais, 2012). Durante o período de condução do experimento foi registrado déficit hídrico severo no município de Uberlândia, inclusive no local onde o experimento foi instalado. Entre os estádios V₆ e V₁₃ foram registrados na Estação Climatológica da Universidade Federal de Uberlândia apenas 25,6 mm de chuva. Esse déficit pode ser evidenciado pelos sintomas apresentados nas plantas durante a condução do experimento (**Figura 2**).



Figura 2 – Área do experimento, com plantas de milho apresentando sintomas de déficit hídrico.

Além da reduzida disponibilidade de água durante grande parte do ciclo da cultura, foram verificadas elevadas temperaturas máximas do ar em Uberlândia – MG. No solo, onde se localizam as bactérias inoculadas, em muitas situações, a temperatura pode ficar mais de 5 °C acima da temperatura do ar, podendo atingir mais de 45 °C (Bortoluzzi & Eitz, 2000; Silva et al., 2006; Coelho et

al., 2013). Além das altas temperaturas do ar, a conformação das folhas durante o estresse hídrico permitiu maior insolação no solo, o que também pode ter provocado elevação da temperatura do solo.

Essas condições ambientais possivelmente comprometeram a atividade do *A. brasilense*. Essas bactérias são sensíveis a altas temperaturas, principalmente acima de 35 °C, e a deficiência hídrica (Hungria, 2011).

É importante ressaltar que o déficit hídrico e as temperaturas máximas não foram severos nas primeiras semanas do ciclo da cultura. Logo, pode ter havido um período propício para a atividade do *A. brasilense* durante o desenvolvimento vegetativo, explicando assim a contribuição para o aumento da altura de inserção da espiga no Experimento 1, cujo suprimento de fertilizante nitrogenado foi menor que no Experimento 2.

CONCLUSÕES

Em condições de déficit hídrico e de altas temperaturas do solo a inoculação de plantas de milho com *A. brasilense* não se mostrou eficiente para incrementar a produtividade. Em condições de baixo suprimento de fertilizantes nitrogenados, a inoculação com *A. brasilense* pode contribuir para o maior desenvolvimento vegetativo das plantas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Syngenta pelo apoio financeiro e estrutural.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, R. M.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. V. B. Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.9, p.1556-1560, 2014.

BORTOLUZZI, E. C.; ELTZ, F. L. P. Efeito do manejo mecânico da palhada de aveia preta sobre a cobertura, temperatura, teor de água no solo e emergência da soja em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.24, n.2, p.449-457, 2000.

COELHO, M.E.H.; FREITAS, F.C.L.; CUNHA, J.L.X.L.; SILVA, K.S.; GRANGEIRO, L.C.; OLIVEIRA, J.B. Coberturas do solo sobre a amplitude térmica e a produtividade de pimentão. **Planta Daninha**, Viçosa, v.31, n.2, p.369-378, 2013.

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, Campina Grande, v.17, n.10, p.1023-1029, 2013.

DÍAZ-ZORITA, M. Avaliação da produção de milho (*Zea mays* L.) inoculado com *Azospirillum brasilense* na Argentina. In: PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; DUARTE, A.P.; TSUNECHIRO, A. (Org.). **Diversidade e inovações na cadeira produtiva de milho e sorgo na era dos transgênicos**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2012. p.529-536.

DOBDELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; DUTTO, P.; LABANDERA-GONZALES, C.; CABALLERO-MELLADO, J.; AGUIRRE, J. F.; KAPULNIK, Y.; BRENER, S.; BURDMAN, S.; KADOURI, D.; SARIG, S.; OKON, Y. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology**, Austrália, v.28, p.871-879, 2001.

FARIA, M. V. **Proteção e nutrição foliar na produção de massa seca, acúmulo, extração e exportação de macro e micronutrientes em híbridos de milho**. 2014. 84f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

FERREIRA, A. S.; PIRES, R. R.; RABELO, P. G.; OLIVEIRA, R. C.; LUZ, J. M. Q.; BRITO, C. H. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.72, p.103-108, 2013.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p. (Documentos, 325).

LARA CABEZAS, W.A.R.L.; SOUZA, M.A. Volatilização de amônia, lixiviação de nitrogênio e produtividade de milho em resposta à aplicação de misturas de uréia com sulfato de amônio ou com gesso agrícola. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, n.6, p.2331-2342, 2008.

MORAIS, T.P. **Adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense* em híbridos de milho**. 2012. 70f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

MÜLLER, T.M.; SANDINI, I.E.; RODRIGUES, J.D.; NOVAKOWISKI, J.H.; BASI, S.; KAMINSKI, T.H. Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. **Ciência Rural**, Santa Maria, ahead of print, 2015.

REIS JUNIOR, 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**, Viçosa, v.32, n.3, p.1139-1146, 2008.

SÁ JÚNIOR, A. **Comportamento agrônomo do milho**

em resposta ao modo de aplicação e concentração de *Azospirillum brasilense*. 2012. 41f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

SANGOI, L.; ALMEIDA, M.L.; GRACIETTI, M.A.; HORN, D.; SCHWEITZER, C.; SCHIMITT, A.; BIANCHET, P. Rendimento de grãos, produção e distribuição de massa seca de híbridos de milho em função do aumento da densidade de plantas. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.11, n.1, p. 25-31, 2005.

SILVA, V.R.; REICHERT, J.M.; REINERT, D.J. Variação na temperatura do solo em três sistemas de manejo na cultura do feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.30, n.3, p.391-399, 2006.

SORATTO, R.P.; PEREIRA, M.; COSTA, T.A.M.; LAMPERT, V.N. Fontes alternativas e doses de nitrogênio no milho safrinha em sucessão à soja. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.41, n.4, p.511-518, 2010.



XXXI CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO

**"Milho e Sorgo: inovações,
mercados e segurança alimentar"**
