

Inoculação de Sementes de Milho com *Azospirillum brasilense* e Aplicação de Nitrogênio em Cobertura

Eros Artur Bohac Francisco¹, Claudine Kappes², Laércio Domingues³ e Cleverson Luiz Felippi⁴

^{1,2}Pesquisadores da Fundação MT (PMA - Programa de Monitoramento e Adubação), Rondonópolis, MT. ¹erosfrancisco@fundacaomt.com.br e ²claudineikappes@fundacaomt.com.br;
^{3,4}Nitral Urbana, Pinhais, PR. ³laercio.domingues@nitralurbana.com.br e ⁴cleverson.felippi@nitralurbana.com.br.

RESUMO - Conduziu-se este trabalho com o objetivo de avaliar o desempenho agrônomo do milho, em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e da aplicação de nitrogênio em cobertura. O experimento foi conduzido na Estação Experimental Cachoeira da Fundação MT, em Itiquira, MT (17° 09' S, 54° 45' W e 490 m de altitude), sob Latossolo Vermelho distrófico muito argiloso. Os tratamentos, dispostos em blocos casualizados com cinco repetições, foram: 1) testemunha; 2) 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio; 3) inoculação; 4) inoculação + 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio e; 5) inoculação + 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio + Nfix[®] foliar. As parcelas foram constituídas por nove linhas de 15 m, espaçadas de 0,45 m. Avaliou-se: teor foliar de macro e micronutrientes, população inicial de plantas, altura final de planta, prolificidade, massa de mil grãos e produtividade. Os resultados foram submetidos ao teste F, comparando-se as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey. A aplicação de 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio e a inoculação das sementes com *A. brasilense* + 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio proporcionou maior teor de zinco foliar. A utilização de *A. brasilense* + 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio + Nfix[®] proporcionou maior produtividade de milho.

Palavras-chave: *Zea mays*, bactéria diazotrófica, adubação nitrogenada, produtividade.

Introdução

Existe grande interesse em práticas alternativas que visem a redução na aplicação e aumento de eficiência na utilização de insumos nas áreas de produção agrícola. Dentre os processos biológicos que ocorrem na natureza, a fixação biológica do nitrogênio atmosférico é realizada por um grupo restrito de bactérias, denominadas diazotróficas. Dentre estas, as do gênero *Azospirillum*, principalmente a espécie *Azospirillum brasilense*, tem sido usada como inoculante em diversas culturas, tais como: cereais, algodão, cana-de-açúcar, café, braquiárias e outras (REIS, 2007).

A interação positiva entre estas bactérias e o milho tem sido demonstrada por vários autores e, embora o maior obstáculo para a utilização desta tecnologia é a inconsistência de resultados em condições de campo, ligada a fatores como condições edafoclimáticas e interações com a biota do solo (DOBBELAERE et al., 2001; REIS, 2007), levantamentos de diversos experimentos realizados em vários países mostram que a inoculação com *Azospirillum* resultou, na maioria dos casos, em aumento de

matéria seca, produtividade e acúmulo de nitrogênio. Apesar de muitos anos de pesquisa, ainda se observam respostas muito variáveis, o que mostra a importância e justifica a realização de experimentos.

Sabe-se que existem interações entre o nitrogênio e as bactérias diazotróficas na assimilação e utilização desse nutriente pelas plantas. Ferreira et al. (1987) observaram que bactérias do gênero *Azospirillum* podem atuar no crescimento vegetal por meio da redução do nitrato nas raízes das plantas. Desse modo, as plantas não gastariam energia para reduzir o nitrato até amônia e essa energia poderia ser canalizada para outros processos vitais. O conhecimento desta interação pode constituir estratégia importante e contribuir com informações no que se refere à redução de aplicação de fertilizantes nitrogenados, redução de custos na semeadura e menor contaminação do lençol freático por compostos nitrogenados. O nitrogênio possui papel fundamental no metabolismo vegetal por participar diretamente na biossíntese de proteínas e clorofilas (ANDRADE et al., 2003). No entanto, encontra-se em quantidades insuficientes na maioria dos solos brasileiros, tornando-se crucial um fornecimento exógeno.

Tendo em vista a importância da fixação biológica e do manejo do nitrogênio, conduziu-se este trabalho com o objetivo de avaliar o desempenho agrônomico do milho, cultivado em sistema plantio direto, em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e da aplicação de nitrogênio em cobertura.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Estação Experimental Cachoeira da Fundação MT (17° 09' S, 54° 45' W e 490 m de altitude), município de Itiquira, MT. A região está localizada sob bioma de Cerrado, cujo clima predominante, segundo classificação de Köppen, é o do tipo Aw. A precipitação média é entre 1.200 e 1.800 mm e a temperatura média anual entre 22 e 23 °C. O solo da Estação Experimental Cachoeira é classificado como Latossolo Vermelho distrófico e de textura muito argilosa (EMBRAPA, 2006), cujas características químico-físicas na camada de 0 a 0,2 m estão apresentadas na Tabela 1. A área experimental apresenta histórico de 30 anos de cultivo de soja no período primavera-verão.

Foram testados cinco tratamentos, constituídos pela combinação de inoculação das sementes e doses de nitrogênio em cobertura. Os tratamentos foram dispostos em delineamento de blocos casualizados, com cinco repetições (Tabela 2). As sementes foram inoculadas no momento da semeadura, utilizando-se o inoculante líquido Gelfix®

com estirpes de *Azospirillum brasilense*, na dose de 100 mL por 60.000 sementes. O nitrogênio foi aplicado quando a cultura encontrava-se no estágio V₄ (RITCHIE et al., 2003), utilizando como fonte a ureia. O Nfix[®] foi aplicado via foliar no estágio V₄ (3,0 L ha⁻¹), de acordo com o tratamento. As parcelas foram constituídas por nove linhas de 15,0 m de comprimento, espaçadas de 0,45 m, perfazendo área total de 60,75 m².

Além do inoculante, as sementes de milho foram tratadas com o inseticida imidacloprido (45 g ha⁻¹) + tiodicarbe (135 g ha⁻¹). Utilizou-se o híbrido simples DOW 2B688 Hx, ciclo precoce (860 graus dia) e grãos semi-duros alaranjado. A semeadura foi realizada no dia 04/03/2011, distribuindo-se 2,4 sementes por metro de sulco, no espaçamento de 0,45 m entre linhas. Foram aplicados 200 kg ha⁻¹ de superfosfato simples no sulco de semeadura. Utilizou-se semeadora específica para o sistema plantio direto, equipada com mecanismo de distribuição de sementes pneumático. O manejo de plantas daninhas e de insetos praga foi realizado conforme a necessidade da cultura.

Quando a cultura encontrava-se entre os estádios de desenvolvimento V₄ e V₅ (RITCHIE et al., 2003), foi avaliada a população inicial pela contagem do número de plantas presentes em três metros lineares em dois pontos de cada parcela, extrapolando-se os valores médios dos dois pontos para plantas ha⁻¹. No florescimento pleno da cultura foram coletadas 20 amostras de folhas por parcela para determinação de macro e micronutrientes (terço central da folha da espiga). A colheita do milho foi realizada no dia 12/07/2011, momento no qual foram avaliadas as seguintes características agronômicas: i) altura final de planta: medição do colo até a inserção da folha “bandeira”, em cinco plantas por parcela; ii) prolificidade: obtida pela relação entre o número de espigas colhidas e o número de plantas na área da parcela amostrada; iii) massa de mil grãos: determinado pela pesagem de cinco subamostras de 100 grãos por parcela, extrapolando-se para mil grãos e corrigindo-se para 14% de umidade (base úmida – b.u.) e; iv) produtividade: obtida a partir da trilha mecânica e pesagem dos grãos oriundos das espigas colhidas na área útil das parcelas, a qual foi convertida para kg ha⁻¹ e corrigida para 14% de umidade (b.u.). Na determinação da produtividade, foram delimitados dois pontos em cada parcela. Os pontos amostrais foram constituídos por duas linhas adjacentes com 4,0 m de comprimento. A produtividade foi obtida, dessa maneira, pela média aritmética entre os dois pontos amostrados.

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste F, comparando-se as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (PIMENTEL GOMES & GARCIA, 2002). O aplicativo computacional utilizado foi o SISVAR.

Resultados e Discussão

A ausência de inoculação das sementes + 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura (tratamento 2) e a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* + 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura (tratamento 4) proporcionaram maior concentração de zinco nas folhas de milho, apesar de que esta superioridade foi estatisticamente diferente somente em relação ao tratamento 3 (com inoculante + 0 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura) (Tabela 3). Os teores foliares dos demais nutrientes mensurados não foram alterados em função dos tratamentos considerados no presente estudo.

Observa-se que a população inicial de plantas, altura final de planta, prolificidade e massa de mil grãos não foram influenciados pela inoculação das sementes e doses de nitrogênio em cobertura (Tabela 4). Os resultados de altura de planta corroboram os obtidos por Cavallet et al. (2000), em que a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum* spp. não influenciou esta característica morfológica. Entretanto, os resultados discordam com os conseguidos por Ramos et al. (2010), os quais constataram maior altura de planta de milho nos tratamentos que envolveram a inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. em relação ao tratamento testemunha e aplicação de 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura. Souza & Soratto (2006) e Kappes et al. (2009) estudando o manejo do nitrogênio em cobertura na cultura do milho cultivado em sistema plantio direto não observaram efeito significativo sobre a prolificidade e massa de grãos da cultura, corroborando com o que foi evidenciado no presente estudo. De acordo com Borrás & Otegui (2001), esse é o componente da produção menos afetado por variações nas práticas de manejo e adubação.

Maior produtividade de milho foi obtida com a combinação da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* + 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura + Nfix[®] aplicado via foliar em V₄ (tratamento 5) (Tabela 4). Tal superioridade representou em relação à testemunha (sem inoculação e sem nitrogênio em cobertura), incremento de 16,7% na produtividade, embora não tenha se verificado diferença estatística comparativamente aos tratamentos 2, 3 e 4. Resultados de aumento de produtividade com o uso de *Azospirillum* também são relatados por Sala et al. (2007), na cultura do trigo, e por Cavallet et al. (2000), na cultura do milho. Cavallet et al. (2000) obtiveram, com a aplicação de nitrogênio em cobertura, aumento de 30% na produtividade do milho quando as sementes foram inoculadas com *Azospirillum* spp. Diversos pesquisadores constataram resultados positivos do milho à aplicação de nitrogênio, dentre eles, Santos et al. (2010) e Francisco et al. (2011).

Conclusões

Nas condições agronômicas de realização deste estudo, os resultados obtidos permitem concluir que:

(i) A utilização combinada de *Azospirillum brasilense* na semente + 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura + Nfix[®] via foliar em V₄ proporcionou maior produtividade de milho.

(ii) A ausência de inoculante na semente + 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura e a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* + 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura proporcionaram maior concentração de zinco foliar.

Literatura Citada

ANDRADE, A.C.; FONSECA, D.M.; QUEIROZ, D.S.; SALGADO, L.T.; CECON, P.R. Adubação nitrogenada e potássica em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier). Ciência e Agrotecnologia, p.1643-1651, 2003. Edição especial.

BORRÁS, L.; OTEGUI, M.E. Maize kernel weight response to post-flowering source-sink ratio. Crop Science, v.41, n.6, p.1816-1822, 2001.

CAVALLET, L.E.; PESSOA, A.C.S.; HELMICH, J.J.; HELMICH, P.R.; OST, C.F. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.4, n.1, p.129-132, 2000.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; DUTTO, P.; LABANDERA-GONZALEZ, 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, v.28, n.9, p.871-879, 2001.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema brasileiro de classificação de solos. 2.ed. Brasília: Embrapa-SPI; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.

FERREIRA, D.F. Sisvar: sistema de análise de variância para dados balanceados. Versão 5.0. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2003.

FRANCISCO, E.A.B.; KAPPES, C.; ZANCANARO, L.; FUJIMOTO, G.R. Manejo da adubação nitrogenada no milho safrinha em sucessão à soja e milheto. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA, 11., 2011, Lucas do Rio Verde. p.341-351.

KAPPES, C.; CARVALHO, M.A.C.; YAMASHITA, O.M.; SILVA, J.A.N. Influência do nitrogênio no desempenho produtivo do milho cultivado na segunda safra em sucessão à soja. Pesquisa Agropecuária Tropical, v.39, n.3, p.251-259, 2009.

PIMENTEL GOMES, F.; GARCIA, C.H. Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos. Piracicaba: FEALQ, 2002. 309p.

RAMOS, A.S.; SANTOS, T.M.C.; SANTANA, T.M.; GUEDES, E.L.F.; MONTALDO, Y.C. Ação do *Azospirillum lipoferum* no desenvolvimento de plantas de milho. Revista Verde, v.5, n.4, p.113-117, 2010.

REIS, V.M. Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22p. (Documentos, 232).

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J.; BENSON, G.O. Como a planta de milho se desenvolve. Piracicaba: Potafós, 2003. 20p. (Informações Agrônômicas, 103).

SALA, V.M.R.; CARDOSO, E.J.B.N.; FREITAS, J.G.; SILVEIRA, A.P.D. Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em condições de campo. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.42, n.6, p.833-842, 2007.

SANTOS, P.A.; SILVA, A.F.; CARVALHO, M.A.C.; CAIONE, G. Adubos verdes e adubação nitrogenada em cobertura no cultivo do milho. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.9, n.2, p.123-134, 2010.

SOUZA, E.F.C.; SORATTO, R.P. Efeito de fontes e doses de nitrogênio em cobertura, no milho safrinha, em plantio direto. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.5, n.3, p.395-405, 2006.

Tabela 1. Características químico-físicas do solo da área experimental na camada de 0,0 a 0,2 m, antes da instalação do experimento. Itiquira, MT (2011).

pH do solo	P	K	S	Ca	Mg	Al	H	V	MO	Argila	Areia	Silte	
H ₂ O	CaCl ₂	— mg dm ⁻³	—	—	cmol _c dm ⁻³	—	—	%	g dm ⁻³	—	g kg ⁻¹	—	
5,7	4,9	15,6	79	11,7	2,7	0,7	0,0	5,0	42	36,8	639	152	209
	Zn		Cu		Fe				Mn		B		
	— mg dm ⁻³ —												
	6,1		2,1		90				26,9		0,42		

Tabela 2. Descrição sucinta dos tratamentos estudados. Itiquira, MT (2011).

Tratamento	Inoculação	Dose de N	Nfix [®]
		— kg ha ⁻¹ —	
1	Sem	0	—
2	Sem	60	—
3	Com	0	—
4	Com	30	—
5	Com	30	V4

Tabela 3. Resumo da análise de variância e valores médios de teor foliar de macro e micronutrientes no milho em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura. Itiquira, MT (2011).

Tratamento	g kg ⁻¹						mg kg ⁻¹				
	N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Cu	Fe	Mn	B
1	29,3	2,30	19,9	2,64	1,68	2,41	19,5ab	7,74	185	64,6	16,0
2	29,8	2,40	21,3	2,73	1,80	2,48	21,6a	7,76	159	63,4	17,3
3	28,0	2,32	20,2	2,61	1,74	2,24	18,2 b	8,76	176	61,0	18,8
4	28,3	2,42	20,4	2,70	1,80	2,25	21,3a	8,14	190	60,4	18,1
5	28,6	2,36	19,4	2,61	1,71	2,42	19,9ab	8,58	171	58,8	17,1
Teste F	1,05 ^{NS}	0,38 ^{NS}	1,13 ^{NS}	0,32 ^{NS}	1,13 ^{NS}	0,68 ^{NS}	5,68**	0,58 ^{NS}	1,28 ^{NS}	0,70 ^{NS}	0,59 ^{NS}
CV (%)	5,64	7,78	7,0	8,05	6,46	12,50	6,48	16,65	12,50	10,12	17,27
Média geral	28,8	2,36	20,3	2,66	1,75	2,36	20,1	8,19	176	61,6	17,4

** e ^{NS} – significativo a 1% de probabilidade e não significativo, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV – coeficiente de variação experimental.

Tabela 4. Resumo da análise de variância e valores médios de população inicial de plantas (PIP), altura final de planta (AFP), prolificidade, massa de mil grãos (MMG) e produtividade (PROD) de milho em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura. Itiquira, MT (2011).

Tratamento	PIP	AFP	Prolificidade	MMG	PROD
	(plantas ha ⁻¹)	— cm —	(espiga planta ⁻¹)	— g —	— kg ha ⁻¹ —
1	49.167	229,0	0,98	238,9	4.480 b
2	47.222	234,4	0,99	226,3	4.822 ab
3	51.111	237,0	0,99	241,2	4.667 ab
4	48.889	237,8	1,00	242,1	4.881 ab
5	51.389	238,0	0,99	231,9	5.230 a
Teste F	2,70 ^{NS}	2,29 ^{NS}	1,59 ^{NS}	2,23 ^{NS}	3,47 *
CV (%)	4,72	2,28	1,30	4,30	6,96
Média geral	49.555	235,0	0,99	236,1	4.816

* e ^{NS} – significativo a 5% de probabilidade e não significativo, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV – coeficiente de variação experimental.