

## **Resposta a Inoculação de Estirpes de *Azospirillum brasilense* na Cultura do Milho na Região Oeste do Paraná**

Artur Soares Pinto Junior<sup>1</sup>; Vandeir Francisco Guimarães<sup>1</sup>; Luan Fernando Ormond Sobreira Rodrigues<sup>1</sup>; Luis Claudio Offemann<sup>1</sup>; Andréia Cristina Peres Rodrigues da Costa<sup>1</sup>; Monica Bartira da Silva<sup>1</sup>; João Alexandre Lopes Dranski<sup>1</sup>; Karoline Branco Bandeira<sup>1</sup>; Fábio Oliveira Pedrosa<sup>2</sup>; Emanuel Maltempi de Souza<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidades Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, Marechal Cândido Rondon, PR. [vandeirfg@yahoo.com.br](mailto:vandeirfg@yahoo.com.br); [artur\\_bio@hotmail.com](mailto:artur_bio@hotmail.com) e [andreiapr@hotmail.com](mailto:andreiapr@hotmail.com) <sup>2</sup>Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR – UFPR

**RESUMO** – Este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência agronômica de três estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5, Ab-V6 e Ab-V7) associada à adubação nitrogenada na cultura do milho. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com os seguintes tratamentos: T1- Testemunha; T2- 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio; T3- 120 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio; T4- Ab-V5 + 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio; T5- Ab-V6 + 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio; T6- Ab-V7 + 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio; T7- Ab-V5 + Ab-V6 + 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio; T8- Ab-V5 + Ab-V7 + dose de 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio; T9- Ab-V6 + Ab-V7 + 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio e T10- Ab-V5 + Ab-V6 + Ab-V7 + 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio. Foram avaliados matéria seca de caule, matéria seca de folha, matéria seca total, diâmetro de caule, área foliar, altura de planta, teor relativo de clorofila e teor de N, P e K nas folhas. A inoculação com as estirpes proporcionaram maior acúmulo de massa seca, aumento do diâmetro do caule, da área foliar e da altura de plantas, sendo superior a testemunha e igual ao tratamento com a maior dose de nitrogênio. A inoculação não acrescentou valores no teor relativo de clorofila e teor de N, P e K nas folhas.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., inoculante, fixação biológica de nitrogênio, gramíneas.

### **Introdução**

No Brasil, o milho é cultivado em praticamente todo território nacional, sendo que 90% da produção concentra-se nas Regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Para safra 2011/2012 a previsão da Companhia Nacional de Abastecimento, é de que sejam produzidos 65,1 milhões de toneladas de milho. O Estado do Paraná vem ocupando uma área de 2,86 milhões de hectares, a estimativa do estado para o período de 2011/2012 é de produzir 14,24 milhões de toneladas, soma das colheitas da primeira e segunda safra (CONAB, 2012).

O nitrogênio é o elemento mineral mais importante e limitante na produtividade do milho, sendo requerida à sua aplicação em grandes quantidades para suprir a demanda da cultura. Segundo Fancelli (2003), tal deficiência pode reduzir o rendimento de grãos entre 14 e 80 %. Os fertilizantes nitrogenados utilizados constituem um dos mais altos custos da agricultura. Aliado a isso, a uréia, o fertilizante nitrogenado mais utilizado, é derivada do petróleo, um recurso energético não renovável (DOTTO et al, 2010).

Assim, devido à crescente busca por sustentabilidade nos sistemas agrícolas de produção, alguns autores têm apresentado como forma alternativa para a economia de fertilizante nitrogenado, a fixação biológica de nitrogênio (FBN), a qual pode suplementar ou, até mesmo, substituir a utilização destes fertilizantes (REIS JÚNIOR et al., 1998; BERGAMASCHI, 2006).

Uma das possibilidades para viabilizar uma produção com menores custos sem prejudicar o ambiente seria a utilização do potencial genético das plantas, aliado aos recursos biológicos do solo, como as bactérias diazotróficas, que são consideradas promotoras de crescimento vegetal por possuírem a capacidade de fixar nitrogênio (N<sub>2</sub>) para a planta, e de produzir hormônios de crescimento como auxinas e giberelinas, que estimulam o crescimento vegetal principalmente das raízes, atuando na maior absorção de nutrientes e água (DOBBELAERE et al., 2002).

Assim o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência agrônômica de três estirpes de *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada na cultura do milho.

### Material e Métodos

O estudo foi conduzido durante o ano agrícola de 2011/2012, no município de Marechal Candido Rondon, localizado no Oeste do Estado do Paraná. As coordenadas geográficas do local são latitude 24° 29' 70" S e longitude 54° 05' 38" WGr, com altitude média de 350 m acima do nível do mar. O solo é classificado como Latossolo Vermelho eutroférico conforme Embrapa (2006). O material vegetal utilizado foram sementes do híbrido de milho 30F53 (Pionner®). Foram utilizados inoculantes produzidos através de três estirpes de bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense*, sendo elas Ab-V5, Ab-V6 e Ab-V7.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, com quatro repetições, totalizando 40 parcelas experimentais, sendo os tratamentos constituídos conforme descrito a seguir: T1- Testemunha sem nitrogênio e sem inoculação; T2- Controle com dose de 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio e sem inoculação; T3- Controle com dose de 120 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio e sem inoculação; T4- Inoculação das sementes com Ab-V5 + dose de 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio; T5- Inoculação das sementes com Ab-V6 + dose de 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio; T6- Inoculação das sementes com Ab-V7 + dose de 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio; T7- Inoculação das sementes com Ab-V5 + Ab-V6 + dose de 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio; T8- Inoculação das sementes com Ab-V5 + Ab-V7 + dose de 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio; T9- Inoculação das sementes com Ab-V6 + Ab-V7 + dose de 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio e T10- Inoculação das

sementes com Ab-V5 + Ab-V6 + Ab-V7 + dose de 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio.

A adubação fosfatada e potássica foram realizadas de acordo com a análise de solo e necessidades da cultura. Já a adubação nitrogenada foi fornecida na forma de uréia e dividida em três aplicações, sendo 40% na semeadura e o restante aplicado em cobertura nos estádios V4 e V6.

A inoculação com as estirpes da bactéria *A. brasilense* foi realizada antes da semeadura, através da mistura das sementes ao inoculante em uma proporção de 6 mL de inoculante para 1.000 sementes sendo que, no caso da inoculação combinada das estirpes, foi utilizada metade desta proporção de inoculante (3,0 mL) para a combinação de duas estirpes e um terço desta proporção (2,0 mL) para a combinação das três estirpes, totalizando assim a mesma proporção de 6 mL para 1.000 sementes. Os inoculantes foram fornecidos pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), sendo preparados a partir de uma solução de bactérias pura na concentração de 1 x 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>.

Quando as plantas apresentavam-se no estágio vegetativo V8, foram avaliados matéria seca de caule (MSC), matéria seca de folha (MSF), matéria seca total (MST), diâmetro de caule (DC), área foliar (AF), altura de planta, teor relativo de clorofila (SPAD) e teor de N, P e K nas folhas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste “F” a 5% de probabilidade, sendo que todos os dados e análises correspondentes foram efetuados com auxílio do programa estatístico SISVAR.

### **Resultados Discussão**

Todos os tratamentos com inoculação de bactérias diazotróficas apresentaram resultados superiores ao da testemunha (sem inoculação e sem adição de nitrogênio), e iguais ao tratamento controle com a maior dose de N (120 Kg ha<sup>-1</sup>) para matéria seca de caule, folha e total (Tabela 1). O tratamento que se destacou foi com inoculação das estirpes Ab-V5 + Ab-V6 + 60 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, com acréscimos em relação ao da testemunha em 103,82% para matéria seca de caule, 65,11% na matéria seca de folha e 80,36% na matéria seca total.

Este incremento no acúmulo de massa seca da planta em resposta à inoculação pode ser associado à produção de fitohormônios pelas bactérias como auxinas, giberelinas e citocininas, que estimulam a formação de pelos radiculares e raízes secundárias, resultando em maior superfície de absorção de água e nutrientes (RADWAN et al., 2004).

A inoculação com as estirpes de forma isolada ou em combinação promoveu

incrementos no diâmetro de caule, área foliar e altura de plantas (Tabela 2), aumentando em até 20,72; 63,70 e 29,47%, respectivamente.

Não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos para teor relativo de clorofila e teor de N, P e K nas folhas de milho (Tabela 3). Resultados contrários foram obtidos por Dobbelaere et al. (2001), ao trabalharem com bactérias do gênero *Azospirillum*. Estes autores relatam que este maior teor de N nas plantas inoculadas é resultado tanto da FBN, quanto dos mecanismos de promoção do crescimento, que podem incrementar a capacidade das plantas em absorver este nutriente.

O benefício da inoculação do milho com bactérias diazotróficas depende de fatores como genótipo da planta, estirpes selecionadas, inter-relação entre ambos e o meio ambiente (SALA et al., 2007).

### Conclusão

Conclui-se que a inoculação com estirpes de *A. brasilense* contribuiu para o aumento de matéria seca, influenciando de forma positiva no desenvolvimento das plantas de milho.

A inoculação não influenciou no teor de clorofila e no acúmulo de N, P e K nas folhas.

### Agradecimentos

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fixação Biológica de Nitrogênio-INCT; à Fundação Araucária, Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná e à SETI, Secretaria do Estado de Ciência, Tecnologia e Ensino superior do Estado do Paraná; ao Departamento de Bioquímica e Biologia molecular da Universidade Federal do Paraná-UFPR e à Universidade Estadual do Oeste do Paraná-UNIOESTE, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/PNPD).

### Literatura Citada

BERGAMASCHI, C. **Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo**. 2006. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

CONAB. (Companhia Nacional de Abastecimento). **Acompanhamento de Safra Brasileira: Grãos, Safra 2011/ 2012, Sétimo Levantamento, Abril 2012**. Brasília: CONAB, 2012

DOBBELAERE, S. et al. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology**

**and Fertility of Soils**, Berlin, v. 36, n. 4, p. 284-297, 2002.

DOBBELAERE, S. et al. Response of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Australian Journal Plant and Physiology*, v. 28, n.9, p. 871-879, 2001.

DOTTO, A. P. et al. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 3, julio-septiembre, p. 376-382. 2010.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de solos. Sistema Brasileiro de Classificação de solos. 2º ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA/SOLOS, 2006. 360p.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. Cultura do milho: **Estratégias de Manejo para altas produtividades**, Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, 208 p. 2003.

RADWAN, T. E. E.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.39, n.10, p.987-994, 2004.

REIS JÚNIOR, F. B. et al. **Seleção de genótipos de milho e arroz mais eficientes quanto ao ganho de N através de fixação biológica de N<sub>2</sub>**. Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia, nov. 1998. 23 p. (Documento, n. 73).

SALA, V.M.R.; SILVEIRA, A.P.D. da; CARDOSO, E.J.B.N. **Bactérias diazotróficas associadas a plantas não-leguminosas**. In: SILVEIRA, A.P. da; FREITAS, S. dos S. Microbiota do solo e qualidade ambiental. Campinas: IAC, 2007. Cap. 6, p. 97-116.

**Tabela 1.** Matéria seca de caule (MSC), matéria seca de folha (MSF) e matéria seca total (MST) de plantas de milho (híbrido 30F53) submetidas à inoculação de estirpes de *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio. UNIOESTE, Marechal Candido Rondon-PR, 2011/12.

<b>Tratamento</b>	<b>MSC (g)</b>	<b>MSF (g)</b>	<b>MST (g)</b>	
Testemunha	39,25 c	58,75 c	98,00 c	* Significat
60 N	50,00 bc	69,00 bc	119,00 bc	ivo a 5%,
120 N	73,50 ab	91,25 ab	164,75 ab	**
Ab-V5 + 60 N	58,50 abc	79,25 abc	138,00 abc	significat
Ab-V6 + 60 N	64,50 abc	82,00 abc	146,75 abc	ivo a 1%.
Ab-V7 + 60 N	76,00 ab	95,00 ab	171,00 ab	Médias
Ab-V5 + Ab-V6 + 60 N	80,00 a	97,00 a	176,75 a	seguidas
Ab-V5 + Ab-V7 + 60 N	68,75 bc	84,25 abc	152,75 ab	de
Ab-V6 + Ab-V7 + 60 N	64,50 abc	80,25 abc	144,75 abc	mesma
Ab-V5 + Ab-V6 + Ab-V7 + 60 N	60,25 abc	78,75 abc	138,75 abc	letra na
F	4,545*	4,217*	4,685**	coluna
C.V. (%)	18,18	13,87	15,18	não
d.m.s.	28,09	27,51	56,57	diferem
				estatistic

amente entre si pelo teste de tukey ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 2.** Diâmetro de caule (DC), área foliar (AF) e altura de plantas de milho (híbrido 30F53) submetidas à inoculação de estirpes de *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio. UNIOESTE, Marechal

<b>Tratamento</b>	<b>DC (mm)</b>	<b>AF (dm<sup>2</sup>)</b>	<b>Altura (cm)</b>	
Testemunha	24,27 c	136,00 b	104,33 b	Candido
60 N	24,50 bc	170,75 ab	116,42 ab	Rondon-
120 N	26,72 abc	205,50 a	131,42 a	PR,
Ab-V5 + 60 N	26,08 abc	197,50 a	121,50 ab	2011/12.
Ab-V6 + 60 N	26,50 abc	194,25 a	125,83 a	**
Ab-V7 + 60 N	29,15 a	215,25 a	128,83 a	significat
Ab-V5 + Ab-V6 + 60 N	29,30 a	222,75 a	135,08 a	ivo a 1%.
Ab-V5 + Ab-V7 + 60 N	27,87 ab	193,50 b	130,17 a	Médias
Ab-V6 + Ab-V7 + 60 N	27,00 abc	183,00 ab	125,58 a	seguidas
Ab-V5 + Ab-V6 + Ab-V7 + 60 N	26,78 abc	178,00 ab	128,42 a	de
F	5,770**	4,797**	4,659**	mesma
C.V. (%)	5,20	22,92	6,59	letra na
d.m.s.	3,39	54,99	20,01	coluna

entre si pelo teste de tukey ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 3.** Teor relativo de clorofila (em unidades de SPAD) e teor de NPK em plantas de milho (híbrido 30F53) submetidas à inoculação de estirpes de *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio.

Tratamentos	SPAD	N (g Kg <sup>-1</sup> )	P (g Kg <sup>-1</sup> )	K <sup>+</sup> (g Kg <sup>-1</sup> )
Testemunha	46,70	33,25	1,58	16,77
60 N	47,85	27,25	1,77	19,89
120 N	46,40	32,75	1,67	22,88
Ab-V5 + 60 N	44,55	31,50	1,58	21,07
Ab-V6 + 60 N	46,75	29,00	1,63	22,05
Ab-V7 + 60 N	50,63	32,50	1,97	23,97
Ab-V5 + Ab-V6 + 60 N	49,30	26,50	1,87	21,82
Ab-V5 + Ab-V7 + 60 N	45,93	32,25	1,78	22,60
Ab-V6 + Ab-V7 + 60 N	48,00	33,50	1,85	20,10
Ab-V5 + Ab-V6 + Ab-V7 + 60 N	49,93	35,00	1,65	19,24
F	1,445 <sup>ns</sup>	1,904 <sup>ns</sup>	1,811 <sup>ns</sup>	1,818 <sup>ns</sup>
C.V. (%)	6,67	13,04	11,55	14,79
d.m.s.	7,72	9,94	0,49	7,57

UNIOES  
TE,  
Marechal  
Candido  
Rondon-  
PR,  
2011/12.  
<sup>ns</sup> – não  
significati  
vo