

Inoculação de Sementes com Bactéria Diazotrófica e Aplicação de Nitrogênio em Cobertura e Ureia Foliar na Cultura do Milho

Claudinei Kappes^{1*}, Orivaldo Arf¹, Marcelo Valentini Arf¹, João Paulo Ferreira¹, Edjair Augusto Dal Bem¹, José Roberto Portugal¹ e Rafael Gonçalves Vilela¹

¹ Universidade Estadual Paulista (UNESP), Ilha Solteira, SP. *kappes.agro@gmail.com

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho agrônômico do milho, em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e da aplicação de N em cobertura e ureia foliar. O experimento foi conduzido em Selvíria, MS, no ano agrícola 2010/2011, sob Latossolo Vermelho distrófico típico argiloso (20° 20' S e 51° 24' W). Foram estabelecidos dezesseis tratamentos com quatro repetições, em blocos ao acaso, resultantes da combinação de *A. brasilense* (com e sem: 8 mL kg⁻¹ de semente do inoculante Azototal[®]), N em cobertura (0 e 90 kg ha⁻¹ em V₅) e ureia foliar (0, 4, 8 e 12 %: aplicações em V₅ e V₈). O híbrido utilizado foi o DKB 390 YG[®] e semeado no espaçamento de 0,9 m entre linhas. Foram mensurados componentes morfológicos e produtivos e produtividade do milho. Houve aumento de produtividade pela inoculação das sementes com *A. brasilense*. A aplicação de 90 kg ha⁻¹ de N em cobertura proporcionou maior índice de clorofila foliar, diâmetro de colmo e prolificidade, entretanto, a produtividade não foi incrementada. A aplicação de ureia foliar não apresentou eficiência agrônômica e, portanto, não deve ser utilizada como única forma de fornecimento de N à cultura.

Palavras-chave: *Zea mays*, *Azospirillum brasilense*, adubação nitrogenada, produtividade.

Introdução

Dentre os processos biológicos que ocorrem na natureza, a fixação biológica do N₂ é realizada por um grupo restrito de bactérias, denominadas diazotróficas. Dentre estas, as do gênero *Azospirillum*, principalmente a espécie *A. brasilense*, tem sido usada como inoculante em diversas culturas. 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 (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 N.

Sabe-se que existem interações entre o N 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.

Pouco se conhece sobre as situações nas quais os fertilizantes foliares podem complementar os fertilizantes aplicados via solo, visando aumento da eficiência de uso do nutriente e da produtividade. Deuner et al. (2008) concluíram que a aplicação de N foliar pode ser uma maneira eficiente para complementar o que é absorvido pelas raízes. A ureia é indicada para aplicação foliar por conter alta concentração de N e alto grau de solubilidade. O risco de causar injúrias nas folhas é menor para a ureia em relação às outras fontes de N, desde que em concentrações equivalentes. Estudos envolvendo aplicação de ureia foliar são importantes, pois essa prática pode trazer problemas ao desenvolvimento da planta em caso de fitotoxicidade causada pelo fertilizante.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho agrônômico do milho, cultivado em sistema plantio direto, em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e da aplicação de N em cobertura e ureia foliar.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em Selvíria, MS, em área experimental situada a 20° 20' Sul e 51° 24' Oeste, com 340 m de altitude. O clima da região, segundo classificação de Köppen, é do tipo Aw, com precipitação pluvial média anual de 1.330 mm. O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho distrófico álico e de textura argilosa, cuja análise química (camada de 0 a 0,2 m) revelou os seguintes valores: MO: 17 g dm⁻³; pH (CaCl₂): 5,5; P (resina) e S: 29 e 7 mg dm⁻³, respectivamente; K, Ca, Mg, H+Al e CTC: 2,7, 31, 18, 33 e 85 mmol_c dm⁻³, respectivamente; e V: 61%. A área é cultivada em sistema plantio direto há oito anos.

Foram estabelecidos dezesseis tratamentos com quatro repetições, resultantes da combinação dos fatores *A. brasilense*, N em cobertura e ureia foliar. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, em esquema misto de faixas e fatorial. Os tratamentos com *A. brasilense* foram dispostos em faixas dentro de cada bloco e as combinações N em cobertura x ureia foliar foram locadas em esquema fatorial 2 x 4 dentro de cada faixa de *A. brasilense*. A aplicação do N em cobertura foi realizada quando a cultura apresentava-se em V₅ (RITCHIE et al., 2003), tendo como fonte a ureia, correspondente a dose de 90 kg ha⁻¹ de N. A aplicação foi manualmente, distribuindo a ureia na superfície do solo (sem incorporação) e ao lado da linha de semeadura. No dia seguinte, constatou-se precipitação pluvial de 25 mm. As parcelas foram constituídas por quatro linhas de 5,0 m de comprimento, espaçadas de 0,9

m entre si. Para a coleta dos dados foram utilizadas as duas linhas centrais. As concentrações de ureia foliar foram de 0, 4, 8 e 12% e as aplicações realizadas em V₅ e V₈ (final de tarde). Utilizou-se pulverizador costal manual, munido de ponta do tipo jato cone vazio e volume de calda de 170 L ha⁻¹.

As sementes foram inoculadas no momento da semeadura, utilizando-se inoculante Azototal[®] com as estirpes Abv5 e Abv6 de *A. brasilense* (2 x 10⁸ células viáveis mL⁻¹) na dose de 8 mL kg⁻¹ de semente. Foi utilizado o híbrido simples DKB 390 YG[®] (Dekalb[®]), ciclo precoce e grãos semi-duros amarelo-alaranjado. A semeadura foi realizada no dia 10/12/2010, no espaçamento de 0,9 m entre as linhas. Na adubação mineral de semeadura foram aplicados 400 kg ha⁻¹ da fórmula 08-28-16.

Foi realizada a estimativa do índice de clorofila foliar (ICF) com o uso de clorofilômetro (modelo CFL 1030), em três plantas por parcela e em três estádios de desenvolvimento: V₅, V₈ e florescimento (RITCHIE et al., 2003). A primeira e segunda leitura foram realizadas na porção do terço central do limbo da última folha expandida e a terceira leitura na folha oposta e abaixo da espiga principal. Em R₃ (grãos pastosos), mensurou-se em cinco plantas por parcela: diâmetro de colmo (diâmetro do segundo internódio, a partir da base da planta), altura de planta e de espiga.

A colheita foi realizada no dia 15/04/2011, sendo avaliado: população final de plantas, número de fileiras de grãos por espiga, diâmetro de espiga (porção mediana da espiga), comprimento de espiga, prolificidade e massa de mil grãos (pesagem de uma subamostra de 250 grãos por parcela, extrapolando-se para mil grãos e corrigindo-se para 13% de umidade - base úmida - b.u.). A produtividade foi 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 13% de umidade (b.u.). Os resultados foram submetidos ao teste F, comparando-se as médias dos tratamentos com *A. brasilense* e de N em cobertura pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As médias de concentrações de ureia foliar foram submetidas à análise de regressão.

Resultados e Discussão

A inoculação das sementes com *A. brasilense* proporcionou maior ICF na primeira leitura (Tabela 1), podendo ser resultado tanto da fixação biológica do N₂, quanto dos mecanismos de promoção do crescimento, que podem incrementar a capacidade das plantas em absorver N do solo. Jordão et al. (2010) também constataram maior ICF em plantas de milho quando as sementes foram inoculadas com *A. brasiliense*. O efeito da inoculação não se

manteve para a segunda e terceira leitura, porém, verificou-se que a aplicação de 90 kg ha⁻¹ de N em cobertura resultou maior ICF em ambas as leituras, resposta esta atribuída a própria função do nutriente, como participação direta na biossíntese de proteínas e de clorofilas. O diâmetro de colmo foi influenciado pela aplicação de N em cobertura e pela interação entre N em cobertura e ureia foliar (Tabela 1). Em todas as concentrações de ureia foliar, exceto para 12%, a aplicação de 90 kg ha⁻¹ de N favoreceu a obtenção de plantas com maior diâmetro de colmo (Tabela 2). O aumento do diâmetro de colmo com a aplicação de N mostra-se ser vantajoso, pois quanto maior o diâmetro, maior a capacidade da planta em armazenar fotoassimilados que contribuirão com o enchimento dos grãos (KAPPES et al., 2011). Houve comportamento quadrático do diâmetro de colmo em resposta à concentração de ureia foliar. O modelo permitiu afirmar que a aplicação de ureia na concentração de 4,7% proporcionou o máximo diâmetro de colmo, que foi 22,2 mm.

A utilização de *A. brasilense* proporcionou maior altura de planta e de inserção de espiga (Tabela 1), corroborando com os resultados conseguidos por Ramos et al. (2010), os quais constataram maior altura de plantas 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 N em cobertura. A população inicial e final de plantas, número de fileiras de grãos por espiga, diâmetro de espiga e massa de mil grãos não foram influenciadas pela utilização de *A. brasilense* e de N em cobertura e ureia foliar (Tabela 3). Ohland et al. (2005) avaliando o manejo da adubação nitrogenada no milho em sistema plantio direto não verificaram diferença para o diâmetro de espiga. Porém, Kappes et al. (2009) concluíram que a aplicação de N quando as plantas apresentavam em V₁₀, proporcionou maior diâmetro de espiga, comprimento de grão, número de fileiras de grãos por espiga e produtividade, independente da fonte (ureia, sulfato de amônio e sulfonitrato de amônio).

O comprimento de espiga foi maior com a inoculação das sementes com *A. brasilense* (Tabela 3). Cavallet et al. (2000) constataram acréscimo de 6% no comprimento de espiga nos tratamentos que receberam a inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. Nota-se que a aplicação de N em cobertura e ureia foliar não influenciou o comprimento médio de espiga, conforme também evidenciado por Ohland et al. (2005). A prolificidade foi maior quando as sementes foram inoculadas com *A. brasilense* e após a cultura ter recebido aplicação de N em cobertura (Tabela 3). Tal resposta mostra que a competição entre as plantas pelos recursos do meio, especialmente por nutrientes, foi pequena, disponibilizando às plantas os recursos necessários para o enchimento dos grãos em mais de uma espiga por planta.

A produtividade foi maior quando as sementes foram inoculadas com *A. brasilense* (Tabela 3), representando, em comparação a ausência de inoculação, acréscimo de 9,4% na produtividade da cultura. Cavallet et al. (2000) obtiveram, na presença de aplicação de N em cobertura, aumento de 30% na produtividade quando as sementes foram inoculadas com *Azospirillum* spp. Nas condições edafoclimáticas de realização do presente estudo, a aplicação de N em cobertura e ureia foliar não foi eficiente em incrementar a produtividade do milho. Esta falta de resposta do milho ao N aplicado em cobertura pode ser atribuída à cultura antecessora. Entretanto, a presença de resposta positiva da inoculação das sementes de milho com *A. brasilense* sobre algumas características agrônômicas consideradas, especialmente produtividade, vem a ressaltar o papel significativo das bactérias diazotróficas no desempenho desta cultura.

Conclusões

Houve aumento de produtividade quando as sementes foram inoculadas com *Azospirillum brasilense*. A aplicação de 90 kg ha⁻¹ de N em cobertura proporcionou maior ICF, diâmetro de colmo e prolificidade, entretanto, a produtividade não foi incrementada. A aplicação de ureia foliar não apresentou eficiência agrônômica.

Literatura Citada

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.

DEUNER, S.; NASCIMENTO, R.; FERREIRA, L.S.; BADINELLI, P.G.; KERBER, R.S. Adubação foliar e via solo de nitrogênio em plantas de milho em fase inicial de desenvolvimento. Ciência e Agrotecnologia, v.32, n.5, p.1359-1365, 2008.

FERREIRA, M.C.B.; FERNANDES, M.S.; DÖBEREINER, J. Role of *Azospirillum brasilense* nitrate reductase in nitrate assimilation by wheat plants. Biology and Fertility of Soils, v.4, n.1, p.47-53, 1987.

JORDÃO, L.T.; LIMA, F.F.; LIMA, R.S.; MORETTI, P.A.E.; PEREIRA, H.V.; MUNIZ, A.S.; OLIVEIRA, M.C.N. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum braziliense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. In: FERTBIO, 2010, Guarapari.

KAPPES, C.; ANDRADE, J.A.C.; ARF, O.; OLIVEIRA, A.C.; ARF, M.V.; FERREIRA, J.P. Desempenho de híbridos de milho em diferentes arranjos espaciais de plantas. Bragantia, v.70, n.2, p.334-343, 2011.

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.

OHLAND, R.A.A.; SOUZA, L.C.F.; HERNANI, L.C.; MARCHETTI, M.E.; GONÇALVES, M.C. Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. *Ciência e Agrotecnologia*, v.29, n.3, p.538-544, 2005.

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 Agrônomicas, 103).

Tabela 1. Resumo da análise de variância e valores médios de índice de clorofila foliar (ICF), diâmetro de colmo (DC), altura de planta (AP) e altura de inserção de espiga (AE) de milho em função da inoculação de sementes com *A. brasilense* e aplicação de N em cobertura e ureia foliar. Selvíria, MS (2010/2011).

Tratamentos	ICF			DC (mm)	AP cm	AE	
	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura				
<i>A. brasilense</i> (A)							
Com	40,3 a	48,6	61,2	20,6	215,7 a	115,0 a	
Sem	38,6 b	49,4	59,0	20,6	203,1 b	111,8 b	
N em cobertura (N)							
0 kg ha ⁻¹	–	45,8 b	57,3 b	19,6	210,1	113,7	
90 kg ha ⁻¹	–	52,8 a	62,9 a	21,6	208,8	113,1	
Ureia foliar (U)							
0%	–	–	60,5	20,7	205,9	113,1	
4%	–	–	59,8	20,3	208,2	114,0	
8%	–	–	60,2	21,1	212,2	114,6	
12%	–	–	59,9	20,3	211,4	112,0	
Valor de F ⁽¹⁾	A	4,99*	0,93	3,49	0,01	20,8**	4,54*
	N	–	62,9**	21,8**	39,5**	0,19	0,13
	U	–	–	0,07	1,74	1,11	0,57
	A x N	–	0,17	2,37	0,02	0,01	0,01
	A x U	–	–	0,69	0,96	0,79	0,59
	N x U	–	–	0,70	4,37**	0,07	0,77
	A x N x U	–	–	0,11	0,69	0,15	0,46
CV (%)	7,79	6,59	7,91	5,95	5,27	5,23	
Média geral	39,4	49,0	60,1	20,6	209,4	113,4	

⁽¹⁾ Teste F: ** e * – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente; Médias seguidas por letra distinta nas colunas diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; CV – coeficiente de variação.

Tabela 2. Diâmetro de colmo (mm) de plantas de milho em função da aplicação de N em cobertura e ureia foliar. Selvíria, MS (2010/2011).

N em cobertura	Ureia foliar (%)				Equação de regressão	R ²
	0	4	8	12		
0 kg ha ⁻¹	19,7 b	18,5 b	20,4 b	20,0 a	não significativa	–
90 kg ha ⁻¹	21,8 a	22,0 a	21,9 a	20,6 a	$y = 21,75 + 0,19x - 0,02x^2$ *	0,97

* – significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. Médias seguidas por letra distinta nas colunas diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Resumo da análise de variância e valores médios de população inicial (PI) e final de plantas (PF), número de fileiras de grãos por espiga (FG), diâmetro (DE) e comprimento de espiga (CE), prolificidade (PR), massa de mil grãos (MMG) e produtividade (PROD) de milho em função da inoculação de sementes com *A. brasilense* e aplicação de N em cobertura e ureia foliar. Selvíria, MS (2010/2011).

Tratamentos	PI (plantas ha ⁻¹)	PF	FG (n°)	DE — mm —	CE	PR	MMG (g)	PROD kg ha ⁻¹
<i>A. brasilense</i> (A)								
Com	65.208	64.375	16,0	51,0	182,5a	1,04 a	309,8	9.501a
Sem	65.312	64.687	16,1	50,6	175,8b	1,01 b	303,8	8.605b
N em cobertura (N)								
0 kg ha ⁻¹	–	65.069	15,9	50,7	177,9	1,01 b	307,5	9.137
90 kg ha ⁻¹	–	63.993	16,2	50,8	180,4	1,04 a	306,1	8.969
Ureia foliar (U)								
0%	–	66.319	15,8	50,3	178,2	1,02	307,9	9.185
4%	–	63.819	16,2	51,1	178,2	1,03	302,5	8.809
8%	–	63.472	16,1	51,1	181,2	1,03	308,1	9.101
12%	–	64.514	16,1	50,6	178,9	1,03	308,6	9.116
Valor de F ⁽¹⁾								
A	0,01	0,10	0,19	0,80	5,32*	6,80*	3,16	8,00**
N	–	1,21	3,94	0,08	0,71	11,0**	0,18	0,64
U	–	1,68	1,30	1,09	0,24	0,43	0,72	0,62
A x N	–	0,03	1,26	0,49	0,02	1,90	0,04	3,64
A x U	–	0,13	0,27	0,90	0,70	0,24	0,43	2,84
N x U	–	0,07	0,44	1,88	0,09	0,57	1,39	0,60
A x N x U	–	1,00	1,65	0,50	0,09	0,11	0,43	0,50
CV (%)	5,27	6,06	3,61	3,03	6,48	2,38	4,42	9,33
Média geral	65.260	64.531	16,1	50,8	179,1	1,03	306,8	9.053

⁽¹⁾ Teste F: ** e * – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente; Médias seguidas por letra distinta nas colunas diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; CV – coeficiente de variação.