

Inoculação de *Azospirillum brasilense* no Tratamento de Sementes e Sulco de Semeadura na Cultura do Milho

Tânia Maria Müller¹, Alex Natã Bazzanezi², Valmiler Vidal³, João Daniel Nerone Turok⁴, João Domingos Rodrigues⁵, Itacir Eloi Sandini⁶.

¹Mestranda, bolsista CAPES, Universidade Estadual do Centro Oeste (UNICENTRO), Guarapuava, PR. (mullertania@hotmail.com). ²Universidade Estadual do Centro Oeste (UNICENTRO), Guarapuava, PR. (bazzanezi_alex@hotmail.com). ³Universidade Estadual do Centro Oeste (UNICENTRO), Guarapuava, PR. (valmiler.vidal@gmail.com). ⁴Universidade Estadual do Centro Oeste (UNICENTRO), Guarapuava, PR. (joaonerone1@gmail.com). ⁵Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. (mingo@ibb.unesp.br). ⁶Universidade Estadual do Centro Oeste (UNICENTRO), Guarapuava, PR. (isandini@hotmail.com).

RESUMO - A cultura do milho encontra-se largamente disseminada no Brasil. Isto se deve tanto à sua variedade de usos na propriedade rural quanto à tradição de cultivo pelos agricultores brasileiros. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a produtividade, massa de mil grãos (MMG), grão ardido, clorofila total, índice de área foliar, folhas senescentes, índice de espigamento, altura de planta e inserção de espiga, número de fileiras e grão por espiga, utilizando *Azospirillum brasilense* no sulco de semeadura e no tratamento de sementes, na cultura do milho. Utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso com três tratamentos e oito repetições. Os tratamentos consistiram em: T1 = controle (sem inoculação), T2 = inoculação de *Azospirillum brasilense* no sulco de semeadura e T3 = inoculação de *Azospirillum brasilense* no tratamento de sementes. Pode-se perceber que não se obteve diferenças significativas para o uso do *Azospirillum brasilense* para produtividade, massa de mil grãos, grão ardido, clorofila total, índice de área foliar, folhas senescentes, índice de espigamento, altura de planta e inserção de espiga, número de fileiras e grão por espiga, concluindo que ainda são necessários mais estudos sobre a bactéria do gênero *Azospirillum brasilense*.

Palavras-chave *Zea mays* L., fixação biológica de nitrogênio, produtividade.

Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é considerado uma das principais espécies utilizadas no mundo. Comparativamente a outras espécies cultivadas, tem experimentado avanços significativos nas mais diversas áreas do conhecimento agrônomo, bem como naquelas referentes à ecologia e etnobiologia, propiciando melhor compreensão de suas relações com o meio e o homem. Tais interações mostram-se fundamentais para o exercício da previsão de comportamento da planta, quando submetida a estímulos e ações negativas advindas da atuação de agentes bióticos e abióticos no sistema produtivo (FANCELLI, 2000).

O nitrogênio (N) é considerado um dos maiores fatores de produção responsáveis pelo acréscimo da produtividade e da proteína dos grãos de milho (AMADO et al., 2002) e possui papel fundamental no metabolismo vegetal, por participar, diretamente, na biossíntese de proteínas e clorofilas (ANDRADE et al., 2003).

O Brasil se destaca no mundo por utilizar o melhor sistema de inoculação da soja objetivando a fixação biológica de nitrogênio. Nos últimos anos, diversos estudos têm demonstrado a possibilidade do uso da fixação biológica de N, para maior aporte deste elemento em gramíneas como o milho. Caso não seja possível à substituição da totalidade do N, pode-se diminuir substancialmente o uso do elemento e, conseqüentemente, reduzir os custos da lavoura e de energia não renovável no país (IPNI, 2008).

As gramíneas apresentam sistema radicular fasciculado, tendo vantagens sobre o sistema pivotante das leguminosas para extrair água e nutrientes do solo. Por isso, mesmo que apenas parte do nitrogênio pode ser fornecida pela associação com bactérias fixadoras, a economia em adubos nitrogenados seria igual ou superior aquela verificada com as leguminosas que podem ser auto-suficientes em nitrogênio (DÖBEREINER, 1992).

O efeito da bactéria *Azospirillum* spp. no desenvolvimento do milho e em outras gramíneas tem sido pesquisado, não somente quanto ao rendimento das culturas, mas também, com relação às causas fisiológicas que, possivelmente, aumentam esse rendimento (BÁRBARO et al., 2008).

Segundo Hungria (2011), atualmente o *Azospirillum* spp. são comercializados para inoculação em trigo e milho, com aumentos de 31 e 26 % na produtividade de grãos, respectivamente. É com a fertilização que as plantas conseguem absorver os principais nutrientes para o seu desenvolvimento. A inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense*, que pode aumentar a produtividade do milho safrinha em até 50%, além de reduzir o custo de produção em 20 %. O inoculante contém alta concentração de bactérias fixadoras de nitrogênio destinadas à cultura do milho. O produto é formulado com soluções estabilizantes, proporcionando alta aderência do produto nas sementes. A inoculação pode ser feita via semente ou no sulco de plantio. A inoculação no sulco de plantio deve ser realizada com equipamentos de pulverização recomendado para este fim, de forma que a inoculação seja simultânea com o plantio do milho (AGROFERTIL, 2011).

Conforme Hungria et al. (2007), o maior desafio na inoculação com *Azospirillum* é a sua compatibilidade com fungicidas e outros produtos usados no tratamento de sementes. Várias pesquisas ainda precisam ser conduzidas para verificar a compatibilidade com os principais agrotóxicos recomendados para as culturas do milho, trigo e outras gramíneas. Uma atenção especial deverá ser dada a estudos de compatibilidade com inseticidas, que são largamente empregados no tratamento de semente de milho.

O investimento em tecnologias ambientalmente corretas, economicamente viáveis, com alta eficácia agrônômica e com excelentes perspectivas para que venham a contribuir

com o uso racional de fertilizantes químicos é, sem dúvida, uma das diversas práticas que contribuem com a agricultura altamente produtiva e sustentável (STOLLER DO BRASIL, 2011). Com esse objetivo o presente trabalho avaliou características agronômicas com a utilização do *Azospirillum brasilense* no sulco de semeadura e no tratamento de sementes.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Galo Vermelho, no município de Guarapuava (PR) na safra 2011/2012, em um solo classificado como Latossolo Bruno Distroférico Típico (Embrapa, 2006). O clima da região foi classificado como temperado de altitude – Cfb (subtropical mesotérmico úmido), conforme classificação de Köppen.

Foi utilizado delineamento experimental de blocos ao acaso com três tratamentos e oito repetições. Os tratamentos consistiram em: T1 = controle (sem inoculação), T2 = inoculação de *Azospirillum brasilense* no sulco de semeadura e T3 = inoculação de *Azospirillum brasilense* no tratamento de sementes. A dose de inoculante líquido a base de *Azospirillum brasilense* (estirpes Abv5 e Abv6) empregada nos tratamentos foi de 100 mL ha⁻¹ via tratamento de sementes e de 300 mL ha⁻¹ quando aplicado no sulco de semeadura. Foram inoculadas 272 sementes por parcela. A pulverização foi realizada com pulverizador costal.

A parcela experimental foi constituída por quatro linhas de semeadura com espaçamento de 0,60 m entre linhas e comprimento de 7 m, totalizando área de 4,20 m² por linha.

Na safra anterior a área experimental foi cultivada com soja e durante o inverno foi ocupada por bovinos de corte em pastagem de aveia preta (*Avena strigosa* L.) e azevém comum (*Lolium multiflorum* Lam.). A semeadura foi realizada de forma manual no dia 03/10/12 utilizando o híbrido 30F53 da empresa PIONEER Sementes no sistema de semeadura direta. Como adubação de base utilizou-se 350 kg ha⁻¹ da fórmula 12-31-17 + 0,4% Zn, sem adubação nitrogenada em cobertura.

Após o florescimento foram escolhidas três plantas ao acaso na terceira linha da parcela onde foi avaliada a clorofila total índice de área foliar (IAF) e folhas senescentes. A clorofila total foi determinada pelo método SPAD. O índice de área foliar foi obtido pela somatório da área de cada folha da planta, a qual por sua vez foi determinada pelo comprimento x largura x 0,75. O número de folhas senescentes, por sua vez, foi obtido pela contagem direta nas plantas.

Após a maturação fisiológica, foi determinada a altura de planta pela medição do nível do solo até a folha bandeira e altura de inserção da espiga superior. O índice de espigamento foi obtido pela relação entre o número de plantas e espigas da área útil da parcela. A produtividade foi obtida pela colheita manual das espigas da área útil da parcela, descartando-se 0,5 m de cada extremidade da linha, fazendo a correção da umidade para 14% e conversão do valor pra kg ha^{-1} . Em uma amostra de seis espigas foi avaliado, por contagem, o número de fileiras e de grãos por fileira. Com pesagem de 300 grãos estimou-se a massa de mil grãos. Em uma amostra de 250 g, foi realizada a avaliação de grão ardido.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade por meio do programa estatístico Assistat.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos podem ser visualizados nas Tabelas 1, 2 e 3. Constatou-se que nenhuma das variáveis apresentou diferença significativa quanto à forma de inoculação de *Azospirillum brasilense*.

Comparando-se ao trabalho de Godoy et al. (2011), apenas com inoculação *A. brasilense*, não se obteve incremento de produtividade. Campos et al. (2000), que avaliando inoculante a base de *Azospirillum* spp. na cultura do milho em condições de campo, não encontraram diferenças estatísticas para número de plantas, número de espigas, estatura de plantas e rendimento de grãos.

Os resultados do experimento contradizem os resultados obtidos por Cavallet et al. (2000), que obteve ganhos de produtividade na ordem de 17% e 9%, respectivamente, com o uso da bactéria *Azospirillum* spp. em milho, no comprimento médio das espigas, obteve de 13,6 para 14,4 cm, mas a inoculação não teve efeito sobre o número de linhas de grãos por espiga e altura de plantas, contudo aumentou significativamente a produtividade média de grãos em relação ao peso dos mesmos. Salomone & Döbereiner (1996) e Okon & Vanderleyden (1997) também encontraram aumentos de produtividade com a inoculação de *Azospirillum* spp. nas mais diversas condições de cultivo oriundos, provavelmente, dos efeitos benéficos dessas bactérias na fixação biológica de nitrogênio.

Conclusão

No experimento não se observaram diferenças significativas quanto à produtividade, massa de mil grãos, grãos ardidos, clorofila total, índice de área foliar, folhas senescentes, índice de espigamento, altura de planta e inserção de espiga, número de fileiras e grão por espiga utilizando *Azospirillum brasilense* no sulco de semeadura e no tratamento de sementes, na cultura do milho. Portanto, são necessários mais estudos sobre a eficiência da bactéria do gênero *Azospirillum brasilense* sobre os rendimentos na cultura, assim como na sua forma de uso, portanto, novas pesquisas devem ser realizadas.

Literatura citada

AGROFERTIL. Inoculante de milho. Lucas do Rio Verde, MT, 6ª edição, 2011.

AMADO, T.J.; MIELNICZUK, J.; AITA, C.. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo sob sistema plantio direto. Revista Brasileira de Ciência do Solo, RS, v.26, p.241-248, jul, 2002.

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, Lavras, Edição especial, p.1643-1651, 2003.

BÁRBARO, IM.; BRANCALÃO, S.R.; TICELLI, M. É possível fixação biológica de nitrogênio no milho. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_2/fixacao/index.htm>. Acesso em: 25 out. 2011. (INFOBIBOS – Informações Tecnológicas, 2008).

CAMPOS, B.H.C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. Avaliação do inoculante “graminante” na cultura de milho. Ciência Rural, Santa Maria, v.3, n.4, p.713-715, 2000.

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. Rev. Bras. de Eng. Agr. e Amb., Campina Grande, PB, v. 4, n.1, p. 129-132, 2000.

DÖBEREINER, J. Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas. In: CARDOSO, E.J.B.N., TSAI, S.M., NEVES, M.C.P. Microbiologia do solo. Campinas: SBCS, 1992. p.173-180.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Cultivo do milho. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_5_ed/economia.htm>. Acesso em: 23 mai. 2012.

FANCELLI, A.L. Fisiologia, nutrição e adubação do milho para alto rendimento. In: SIMPÓSIO ROTAÇÃO SOJA/MILHO NO PLANTIO DIRETO,1. Piracicaba, SP: POTAPHOS, 2000.

GODOY, J.C.S.; WATANABE, S.H.; FIORI C.C.L.; GUARIDO, R.C. Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio com e sem inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. Campo Digital, v.6, n.1, p.26-30, Campo Mourão, jan/jul., 2011.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Embrapa Soja – Documentos 325, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283). (ISSN 1516-781X; N 283).

IPNI. INTERNATIONAL PLANT NUTRITION INSTITUTE, Simpósio discute como utilizar insumos e recursos para otimizar a produtividade do milho. São Paulo, nº 122, jun. 2008.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants, Applied and Environmental Microbiology, New York, v.63, n.7, p.366-370, 1997

REIS, V. M. Uso de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio como Inoculantes para aplicação em gramíneas. Embrapa Agrobiologia. Seropédica, RJ. 22 p., 2007. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 232).

SALOMONE, G.; DÖBEREINER, J. Maize genotypes effects on the response o *Azospirillum* inoculation. Biology Fertilizer Soils, Oxford, v.21, p.193-196, 1996.

STOLLER DO BRASIL. Primeiro no Brasil, inoculante para trigo da Stoller tem registro aprovado pelo Ministério da Agricultura. SP: Stoller do Brasil, 2011.

Tabela 1. Clorofila total, índice de área foliar (IAF) e número de folhas senescentes de planta de milho com diferentes formas de inoculação de *Azospirillum brasilense*. Guarapuava, PR, 2012.

Inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i>	Clorofila total (SPAD)	IAF (cm ² planta ⁻¹)	Número de folhas senescentes
Controle	47,53 a	4,10 a	5,79 a
Sulco de semeadura	48,22 a	4,49 a	4,62 a
Tratamento de sementes	48,64 a	4,31 a	5,17 a
Média	47,96	4,30	5,00
Coefficiente de variação (%)	6,48	10,63	21,12

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Índice de espigamento, altura de planta e altura de inserção de espiga de plantas de milho com diferentes formas de inoculação de *Azospirillum brasilense*. Guarapuava, PR, 2012.

Inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i>	Índice de espigamento (espigas por planta)	Altura de inserção da Espiga	Altura de planta
Controle	1.05 a	114,88 a	213.31 a
Sulco de semeadura	1.02 a	120,65 a	217.81 a
Tratamento de sementes	1.03 a	117,69 a	217.44 a
Média	1.05	105,20	213.36
Coefficiente de variação (%)	2.37	6,23	2.16

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3. Produtividade, massa de mil grãos, grãos ardidos, número de fileiras por espiga, número de grãos por espiga e número de grãos por fileira. Guarapuava, PR, 2012.

Inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i>	Produtividade (kg ha ⁻¹)	Massa de mil grãos (g)	Grãos ardidos (%)	Fileiras por espiga	Grãos por fileira	Grãos Por espiga
Controle	8336,76 a	275,19 a	1,05 a	16,33 a	28,13 a	459.94 a
Sulco de semeadura	8834,79 a	283,87 a	1,02 a	16,75 a	28,90 a	483,47 a
Tratamento de sementes	8807,60 a	285,33 a	1,03 a	16,63 a	28,58a	475,60 a
Média	8720,06	275,64	1,05	16,50	28,33	460,92
Coefficiente de variação (%)	10,30	6,12	2,37	2,67	6,90	7,76

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.