



## EFEITO DA ADUBAÇÃO NITROGENADA NO DESEMPENHO FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE MILHO INOCULADAS COM *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*

Érica de Oliveira Araújo<sup>(1)</sup>, Danieli Pieretti Nunes<sup>(1)</sup>, Fábio Martins Mercante<sup>(2)</sup>,  
Antonio Carlos Tadeu Vitorino<sup>(3)</sup>, Diego Augusto Espindola Mendes<sup>(4)</sup>  
Silvana de Paula Quintão Scalon<sup>(3)</sup>

### Introdução

No agronegócio brasileiro a cultura do milho tem se destacado como uma das principais atividades. A área plantada com milho no Brasil na safra 2012/2013 foi de 156,5 mil hectares com uma produção estimada de 72.569,9 mil toneladas de grãos (CONAB, 2013). Esta cultura é considerada uma das mais exigentes em fertilizantes para o seu desenvolvimento, destacando-se principalmente os nitrogenados (OHLAND et al., 2005).

Entre os organismos de vida livre empregados na agricultura para biofertilização, as bactérias diazotróficas microaeróbias, dos gêneros *Azospirillum* e *Herbaspirillum*, se destacam por sua capacidade de fixar nitrogênio atmosférico e também por estimular o crescimento das plantas, de forma a permitir seu bom desenvolvimento, e quando associadas à rizosfera podem, contribuir com a adubação nitrogenada (CAVALLET et al., 2000).

O efeito do *Azospirillum spp.* e do *Herbaspirillum spp.* no desenvolvimento do milho e de outras gramíneas, tem sido pesquisado nos últimos anos, não somente quanto ao rendimento das culturas, mas também com relação às causas fisiológicas que,

---

<sup>1</sup> Doutorando (a) em Agronomia, Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Rodovia Dourados/Itahum, km 12, Cidade Universitária, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. Caixa Postal 533.ericabb25@hotmail.com; danipiereti@gmail.com;

<sup>(2)</sup> Pesquisador da Embrapa Agropecuária Oeste, BR 163, km 253,6, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. fabio.mercante@cpao.embrapa.br;

<sup>(3)</sup> Professor da Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Rodovia Dourados/Itahum, km 12, Cidade Universitária, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. Caixa Postal 533. antoniovitorino@ufgd.edu.br.

<sup>(4)</sup> Graduando em Agronomia, Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Rodovia Dourados/Itahum, km 12, Cidade Universitária, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. Caixa Postal 533. diegobetfuer@hotmail.com.



possivelmente, aumentam esse rendimento, esperando que a aplicação dessa forma alternativa de adubo reduza a necessidade de aplicação de N fertilizante para a cultura.

Recentemente, estudos têm sido realizados no sentido de avaliar os aspectos benéficos da associação de bactérias diazotróficas com a qualidade fisiológica de sementes (ARAUJO et al. 2010; LEE et al., 2006; PINTO JUNIOR et al., 2012). Nessa perspectiva, objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito da adubação nitrogenada no desempenho fisiológico de sementes de milho inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*.

### Material e Métodos

O primeiro experimento foi realizado, na área experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, situada no município de Dourados-MS, de março a agosto de 2012. As coordenadas geográficas são 22° 14' S e 54° 9' W, com altitude média de 450 metros. O clima é do tipo Cwa, segundo a classificação de Köppen. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distroférico, de textura muito argilosa (EMBRAPA, 2006).

Os resultados da análise química do solo, na profundidade de 0-20 cm, antes da instalação do experimento, resultaram nos seguintes valores: pH (CaCl<sub>2</sub>) 4,5; M.O. 31,18 g dm<sup>-3</sup>; C: 18,13 g dm<sup>-3</sup>; P (melich): 22,07 mg dm<sup>-3</sup>; K: 6,0 mmolc dm<sup>-3</sup>; Ca: 35,4 mmolc dm<sup>-3</sup>; Mg: 8,7 mmolc dm<sup>-3</sup>; Al: 4,8 mmolc dm<sup>-3</sup>; H+Al: 62,1 mmolc dm<sup>-3</sup>; SB: 50,1 mmolc dm<sup>-3</sup>; CTC: 112,2 mmolc dm<sup>-3</sup>, saturação por bases 44,65%. A correção do solo e a adubação de base foram realizadas considerando-se os resultados da análise do solo. A área foi irrigada após a implantação da cultura e em períodos de maior déficit hídrico.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com nove tratamentos e seis repetições, sendo: 1. Controle sem N e sem inoculação; 2. Controle sem N e com *Azospirillum brasilense*; 3. Controle sem N e com *Herbaspirillum seropedicae*; 4. 30 kg N ha<sup>-1</sup> na semeadura; 5. 30 Kg N ha<sup>-1</sup> na semeadura + *Azospirillum brasilense*; 6. 30 Kg N ha<sup>-1</sup> na semeadura + *Herbaspirillum seropedicae*; 7. 30 kg N ha<sup>-1</sup> na semeadura + 90 kg N ha<sup>-1</sup> na cobertura; 8. 30 Kg N ha<sup>-1</sup> na semeadura + *Azospirillum brasilense* + 90 Kg N ha<sup>-1</sup> na cobertura; 9. 30 Kg N ha<sup>-1</sup> na semeadura + *Herbaspirillum seropedicae* + 90 Kg N ha<sup>-1</sup> na cobertura.



Foram utilizadas sementes do híbrido simples P3646H, sendo previamente inoculadas com o produto comercial Azototal, contendo uma combinação de duas estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) em inoculante com formulação líquida e o inoculante contendo a estirpe Z-94 de *Herbaspirillum seropedicae*, em veículo à base de turfa, produzido na Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ. A dose aplicada foi de 150 mL para cada 50 kg de sementes de milho para o inoculante com formulação líquida, e de 250 g para cada 10 kg de sementes de milho do inoculante com veículo à base de turfa.

A semeadura foi realizada manualmente, com o auxílio de “matraca”, colocando-se duas sementes por cova, deixando-se após o desbaste seis plantas por metro linear. Cada unidade experimental foi composta por quatro linhas de seis metros de comprimento espaçadas em 0,90 m entre linhas. Foram eliminadas as duas linhas laterais e 0,5 m de cada extremidade da parcela, avaliando os cinco metros de cada uma das duas linhas centrais.

A colheita do milho foi realizada manualmente, coletando-se todas as espigas da parcela útil. As espigas foram debulhadas com o auxílio de uma máquina manual. A massa de 100 sementes e a produtividade foi determinada em balança analítica, sendo os resultados posteriormente corrigidos para 13% de umidade.

Após a colheita a qualidade fisiológica das sementes foi avaliada no Laboratório de Análise de Sementes da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, em Dourados-MS. O delineamento experimental adotado no segundo experimento foi o inteiramente casualizado, com nove tratamentos e quatro repetições, conforme descritos acima.

Os lotes de sementes foram submetidos aos seguintes testes: Envelhecimento acelerado a 42°C/96 horas: realizado utilizando a metodologia recomendada pela AOSA (1983) e descrita em Marcos Filho (1999), em caixas gerbox (10 x 10 x 3cm), utilizando quatro repetições de 50 sementes distribuídas, em camada uniforme e única, sobre bandeja de tela metálica fixada no interior de caixa plástica contendo 40 mL de água destilada. As caixas, tampadas e acondicionadas em estufa foram mantidas a 42°C por 96 horas. Após este período, quatro repetições de 25 sementes foram submetidas à determinação do teor de água e, quatro repetições de 50 sementes submetidas ao teste padrão de germinação. A interpretação do teste foi realizada aos quatro dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais. Teste de frio: realizado com quatro



repetições de 50 sementes selecionadas ao acaso da produção por tratamento, que foram distribuídas sobre o papel germitest previamente umedecido da mesma maneira que para o teste de germinação. Após a montagem, os rolos foram colocados em sacos plásticos e vedados, sendo então mantidos em câmara fria a 10°C por sete dias, de acordo com Carvalho et al. (2000). Em seguida, os rolos foram transferidos a um germinador ajustado a 25°C, durante sete dias, procedendo-se, em seguida, a avaliação do número de plântulas normais, conforme Brasil (2009). Condutividade elétrica: realizado segundo metodologia proposta pela AOSA (1983) com quatro repetições de 50 sementes, com massa conhecida, colocadas para embeber em recipientes plásticos contendo 75 ml de água deionizada, por um período de 24 horas a 25°C. Em seguida, as amostras foram agitadas para homogeneização dos exsudados liberados na água, efetuando-se a leitura da condutividade elétrica da solução de embebição em condutivímetro modelo Digimed, previamente calibrado, com eletrodo de constante 1,0, expressando-se os resultados em  $\mu\text{mhos}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  de sementes (VIEIRA, 1994).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR.

## Resultados e Discussão

Os resultados de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica não foram afetados pela adubação nitrogenada e a inoculação com bactérias diazotróficas, ou seja, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1). Bassan et al. (2001), também não verificaram efeito da inoculação de semente com *Rhizobium tropici* nos resultados do envelhecimento acelerado de sementes de feijão cultivar Pérola.

Quanto ao teste de frio sem solo, houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1). O tratamento 2 (Controle sem N e com *Azospirillum brasilense*) diferiu estatisticamente da testemunha, sendo o que apresentou maior desempenho, ou seja, maior porcentagem de plântulas normais. Por outro lado, o tratamento 4 (30 kg N ha<sup>-1</sup> no plantio) obteve o pior resultado, sendo possível afirmar que de modo geral apenas o manejo da adubação nitrogenada não melhorou a qualidade fisiológica das sementes. Dados semelhantes foram obtidos por Meira et al. (2005).



**Tabela 1.** Valores de F, coeficiente de variação (CV), diferença mínima significativa (DMS) e teste de Tukey para envelhecimento acelerado (EA), teste de frio (TF) e condutividade elétrica (CE) de sementes de milho em resposta a doses de nitrogênio e a inoculação com bactérias diazotróficas. Dourados, MS (2012).

Tratamentos	EA (%)	TF (%)	CE ( $\mu\text{mhos.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ )
1	92,50	87,50 ab	0,0067
2	93,50	93,50 a	0,0068
3	94,00	82,00 ab	0,0071
4	92,50	78,50 b	0,0064
5	97,00	92,00 ab	0,0085
6	91,00	86,50 ab	0,0079
7	91,50	84,50 ab	0,0061
8	89,50	83,00 ab	0,0079
9	90,00	82,00 ab	0,0076
Média	92,38	85,50	0,007
Teste F	0,93 <sup>ns</sup>	2,76*	1,03 <sup>ns</sup>
DMS	11,28	14,03	0,003
CV(%)	5,13	6,90	21,13

\* e <sup>ns</sup> – significativo e não significativo. Médias seguidas da mesma letra na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## Conclusões

O emprego de *A. brasilense* em associação com 30 kg N ha<sup>-1</sup> na semeadura melhora a qualidade fisiológica das sementes de milho pelo teste de frio sem solo somente em relação ao tratamento com 30 kg N ha<sup>-1</sup> na semeadura.

## Referências

ARAÚJO, A,E,S.; ROSSETO, C.A.V.; BALDANI,V,L,D.; BALDANI, J.I. Germinação e vigor de sementes de arroz inoculadas com bactérias diazotróficas. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 932-939, 2010.

AOSA. **Association of Official Seed Analysts**. Seed vigor testing handbook. East Lansing, AOSA, 1983. 88p.

BASSAN, D.A.Z.; ARF, O.; BUZETTI, S.; CaARVALHO, M.A.C.; SANTOS, N.C.B. S; SÁ, M.E. Inoculação de sementes e aplicação de nitrogênio e molibdênio na cultura do feijão de inverno: produção e qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n.1, p.76-83, 2001.



BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 398 p.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. (Ed.) **Sementes: ciências, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CAVALLET, L. E.; PESSOA, A. C. dos 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**, Campina Grande, v.4, n.1, p.129-132, 2000.

CONAB. 2013. **Acompanhamento da safra brasileira 2012/2013: quinto levantamento, Fevereiro, 2013**. Companhia Nacional de Abastecimento, CONAB, 2013.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA - Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa/DPI, 2006. 306p.

LEE, H.S.; MADHAIYAN, M.; KIM, C.W.; CHOI, S.J.; CHUNG, K.Y. Physiological enhancement of early growth of rice seedlings (*Oryza sativa* L.) by production of phytohormone of N<sub>2</sub>-fixing methylotrophic isolates. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.42, n.5, p.402-408, 2006.

MARCOS FILHO, J. **Teste de envelhecimento acelerado**. In: Krzyzanowski CF, Vieira RD & França-Neto JB (Eds.) Vigor de sementes: Conceitos e testes. Londrina, ABRATES, 1999, p.1-24.

MEIRA, F.A.; SÁ, M.E., BUZZETTI, S.; ARF, O. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio no feijoeiro irrigado cultivado em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.4, p.383-388, 2005.

OHLAND, R. A. A. et al. Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 538-544, 2005.

PINTO JUNIOR, A.S.; GUIMARÃES, V.F.; RODRIGUES, L.F.O.S.; SILVA, M.B.; INAGAKI, A.M.; DIAMANTE, M.S.; OFFEMANN, L.C. Qualidade de sementes de milho oriundas da inoculação combinada de três estirpes de *Azospirillum brasilense*. In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo. **Anais...** Águas de Lindóia – SP, 2012.

VIEIRA, R. D. **Teste de condutividade elétrica**. In: Vieira, R. D.; Carvalho, N. M. Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: Funep, 1994. p. 103–139.