

## Avaliação da Inoculação com Diferentes Estirpes de *Azospirillum* sp. na Produtividade de Milho sob Quatro Níveis de Nitrogênio

**Lívia Maria Ferraz da Fonseca** <sup>(1)</sup>; **Denise Pacheco dos Reis** <sup>(2)</sup>; **Caroline dos Santos Martins Guieiro** <sup>(3)</sup>; **Renata Novais Ribeiro Ribas** <sup>(4)</sup>; **Christiane Abreu de Oliveira Paiva** <sup>(5)</sup>; **Ivanildo Evódio Marriel** <sup>(5)</sup>

<sup>(1)</sup>Mestranda, bolsista de pós-graduação CAPES, Universidade Federal de São João Del Rei (UFSJ); Sete Lagoas, Minas Gerais; email: [liviaferraz@rocketmail.com](mailto:liviaferraz@rocketmail.com); <sup>(2)</sup> Mestranda, bolsista de pós-graduação CAPES, (UFSJ); São João Del Rei, Minas Gerais; email: [denisepachecopl@hotmail.com](mailto:denisepachecopl@hotmail.com); <sup>(3)</sup>Estudante de graduação; Centro Universitário de Sete Lagoas (UNIFEMM); Sete Lagoas, Minas Gerais; email: [carolquieiro@hotmail.com](mailto:carolquieiro@hotmail.com) <sup>(4)</sup> Bolsista pós-doutorado FAPEMIG, email: [renata\\_ribas@terra.com.br](mailto:renata_ribas@terra.com.br); <sup>(5)</sup> Pesquisador; Embrapa Milho e Sorgo (CNPMS); Sete Lagoas, Minas Gerais email: [christiane.paiva@embrapa.br](mailto:christiane.paiva@embrapa.br); [ivanildo.marriel@embrapa.br](mailto:ivanildo.marriel@embrapa.br)

**RESUMO:** O uso de bactérias diazotróficas como inoculantes na cultura do milho vem sendo estudada visando a redução do uso de fertilizantes nitrogenados. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o impacto da inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum* sp. na produtividade da cultivar de milho 30F35H sob quatro doses de fertilizante nitrogenado aplicadas em cobertura. A cultura foi plantada em delineamento de blocos casualizados, em parcelas subdivididas, com quatro repetições. Foram utilizadas seis estirpes do inoculante e um controle negativo em sementes de milho sob quatro níveis de nitrogênio, que variaram de 0 a 160 kg ha<sup>-1</sup>, totalizando 28 tratamentos. A produtividade foi estimada e os dados obtidos foram analisados pelo teste F e Scott-Knott. De maneira geral, a inoculação com *Azospirillum* fez com a produtividade aumentasse em até 20%, contudo, estatisticamente esse aumento não foi significativo. Nas condições avaliadas, o uso de inoculantes não substitui o uso de fertilizantes nitrogenados, tampouco promove a redução da dose recomendada.

**Termos de indexação:** *Zea mays* L., adubação nitrogenada, bactérias diazotróficas.

### INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma cultura de importância global, sendo que o Brasil ocupa o terceiro lugar no ranking mundial como maior produtor deste grão. Considerando apenas a produção primária, esse cereal representa cerca de 37% da produção nacional de grãos (MAPA, 2014).

A cultura demanda grande quantidade de nutrientes, sendo que o nitrogênio (N) é considerado um dos principais, pois é absorvido em alta quantidade, causa efeitos relevantes na produção e produtividade. Sua disponibilidade altera de forma direta a área foliar, a fotossíntese, o desenvolvimento radicular, o tamanho de espigas, o número e a massa de grãos, além da sanidade de grãos (Pionner, 1995).

Para garantir o sucesso na produção, utilizam-se altas doses de fertilizantes nitrogenados, gerando grande impacto econômico e ambiental, fazendo com que o gasto com tais suprimentos possa chegar até 40% do custo total. Assim, para que não falte esse tipo de insumo, o Brasil importa cerca de 75% do total de fertilizantes nitrogenados utilizados na agricultura (ANDA, 2014). Dentre as alternativas para diminuir a utilização destes fertilizantes na cultura do milho, tem-se estudado a seleção e desenvolvimento de genótipos eficientes no uso de N, principalmente sob condições de baixa disponibilidade, associados à seleção e uso de bactérias diazotróficas, como inoculantes para substituição de parte da adubação nitrogenada. Tais bactérias são capazes de fixar o N atmosférico através da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) (Guimarães & Hungria, 2010). Um aumento em função desta possível simbiose entre *Azospirillum* spp. - milho pode resultar em incrementos de produtividade e em redução dos custos de produção, especialmente no que se refere a aquisição de adubos nitrogenados (Cavallet et al., 2000).

Por tudo isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o impacto da inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum* sp. na produtividade na cultivar de milho 30F35H sob quatro doses de fertilizante nitrogenado aplicadas em cobertura.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Embrapa Milho e Sorgo, na cidade de Sete Lagoas, Minas Gerais, localizada na latitude de 19°28'S e longitude de 44°15'L, na altitude de 732 m. O solo do local é um solo de Cerrado, classificado como Latossolo Vermelho distrófico, textura argilosa, com baixa disponibilidade de N.

O milho foi plantado em delineamento de blocos ao acaso, em parcelas subdivididas constituídas de 4 linhas de 5 metros cada uma, com o espaçamento de 0,7 metros entre linhas e 4 repetições. Foram utilizadas seis estirpes do inoculante (E1, E2, E3,

E4, E5 e E6) (dados não publicados) e um controle negativo (E0) em sementes de milho sob quatro níveis de N ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) em cobertura: N0 = 0; N1 = 40; N2 = 100 e N3 = 160, totalizando 28 tratamentos. A adubação utilizada no plantio foi de  $20 \text{ kg ha}^{-1}$  de N do formulado NPK 8-28-16. Os demais tratamentos culturais foram realizados de acordo com as recomendações para a cultura do milho.

O preparo do inoculante foi realizado seguindo a metodologia proposta por Oliveira et al. (2012).

Para se estimar a produtividade de grãos, foi realizada a colheita das plantas e como área útil para se estimar a produção, utilizaram-se as duas linhas centrais, eliminando 0,7 m nas extremidades. Retirou-se toda a palha das espigas de cada parcela e contado individualmente o número de fileiras de grãos, obtendo-se o valor médio. O mesmo procedimento foi usado para o número de espigas. A produtividade foi calculada a partir da determinação do peso de grãos e a umidade corrigida para 13%.

Os dados foram submetidos à análise de variância a 5% pelo teste F e quando significativo, utilizou-se o de Scott-Knott através do programa estatístico SISVAR (Ferreira 2011).

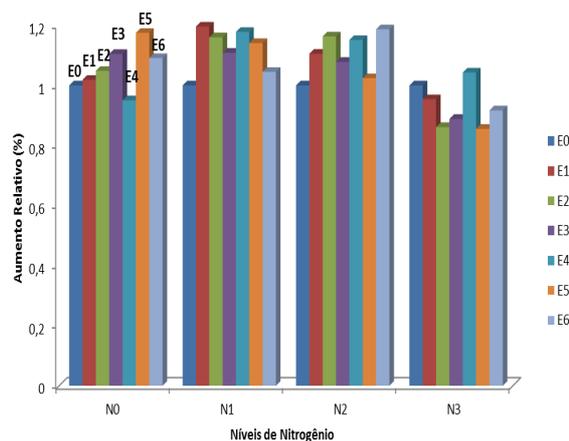
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias de produtividade com as seis estirpes e o controle negativo nos quatro níveis de N estão apresentadas na **tabela 1**. Houve diferença significativa ( $p < 0.05$ ) na interação de dose com inoculante. Para os níveis N0, N1 e N2 não houve diferença entre as estirpes e o controle negativo. No nível N3, as estirpes formaram dois grupos, sendo que aqueles com as maiores médias (E1, E0 e E4) se agruparam com o controle negativo; o outro grupo com quatro estirpes (E2, E3, E5 e E6) teve as menores médias de produtividade. Esse resultado difere dos obtidos por Dinonet et al. (1996), onde a inoculação com *Azospirillum* juntamente com a presença de adubação nitrogenada aumentou a produtividade, indicando que a associação *Azospirillum*-milho utilizou mais eficientemente o N mineral aplicado ao solo. Os tratamentos adotados neste trabalho mostraram-se ineficientes no aumento da produtividade. Outro ponto a ser levado em consideração são os genótipos utilizados e os isolados. Alguns trabalhos relatam que a interação planta-inoculante pode estar relacionada a fatores da própria bactéria, como a escolha da estirpe, o número ideal de células e sua viabilidade (Okon et al., 1997).

Além desses fatores associados às bactérias, os efeitos da inoculação podem também variar em função de fatores extrínsecos tais como, as condições e condução do ensaio, as técnicas utilizadas na inoculação, as características físico-químicas do solo e as próprias interações do *Azospirillum* com a comunidade microbiana nativa

do solo (Chotte et al., 2002). Assim, todos esses fatores podem influenciar no tamanho da população dessas bactérias e assim afetar de forma indireta a FBN e a produção de reguladores de crescimento pelas bactérias e, conseqüentemente, os parâmetros de crescimento da planta (Gadagi et al., 2004).

De maneira geral, o uso da inoculação com *Azospirillum* aumentou em até 20% a produtividade (**Figura 1**), porém, estatisticamente esse aumento não foi significativo ( $p > 0.05$ ). Na região sul do Brasil, observa-se que a produtividade de milho pode ter incrementos de até 30%, dependendo da estirpe bacteriana (Hungria et al. 2010). O que geralmente se observa na produtividade de milho é dado em função da dose de fertilizante nitrogenado aplicado, sendo que quanto maior a dose, maiores são os ganhos em produtividade. Morais (2012) observou que o incremento na dose de N provocou maiores médias no rendimento de grãos de milho.



**Figura 1.** Aumento relativo na produtividade de milho inoculadas com seis estirpes (E1, E2, E3, E4, E5 e E6) em relação ao controle (E0) sob quatro níveis de N ( $\text{Kg ha}^{-1}$ ) em cobertura (N0= 0; N1= 40; N2= 80; N3=160).

## CONCLUSÕES

As estirpes de *Azospirillum* estudadas no trabalho foram efetivas no incremento da produtividade, mesmo sem significância estatística, podendo ser indicadas para este fim.

A adoção das práticas de inoculação não substitui o uso de fertilizantes nitrogenados, tampouco a redução da dose recomendada, nas condições de estudo deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

- ANDA- Associação Nacional para Difusão de Adubos. Publicações. Disponível em: <<http://www.anda.org.br/index.php?mpg=06.00.00&ver=por>> Acesso em: 03 de maio de 2014.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G ; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v.50, p.521-577, 2004.
- 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. eng. agric. ambient.** vol.4 no.1 Campina Grande Jan./Apr. 2000.
- CHOTTE, J. et al.; Changes in bacterial communities and *Azospirillum* diversity in soil fractions of a tropical soil under 3 or 19 years of natural fallow. **Soil Biology and Biochemistry**. Elmsford, v. 34, p.1083-1092, 2002.
- DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O; KENNER, M.H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasiliense*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.16, n.9, p.645-651, 1996.
- EMBRAPA MILHO E SORGO. Nutrição e Adubação do Milho. Disponível em <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho\\_2ed/feraduba.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_2ed/feraduba.htm) > .Acesso em 02 de maio de 2014.
- FERREIRA, D.F. SISVAR - Sistema de análise de variância. Versão 5.3. DEX.Lavras-MG: UFLA, 2011.
- GADAGI, R. S., et al.; The effect of combined *Azospirillum* inoculation and nitrogen fertilizer on plant growth promotion and yield response of the blanket flower *Gaillardia pulchella*. **Scientia Horticulturae**. Amsterdam, v.100, p.323-332, 2004.
- GUIMARÃES, Salomão Lima et al. Bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada em cultivares de arroz. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 4, p. 32-39, 2010.
- GUIMARÃES, F. A. R.; PAIXÃO, G. P.; GUIMARÃES, F. C. N.; SILVEIRA, H. M.; FERREIRA, F. A. Biomassa e Atividade Microbiana Associada a Plantas Daninhas e de Milho Cultivadas em Diferentes Manejos de Fertilidade do Solo. In: XXVIII CONGRESSO BRASILEIRO DA CIENCIA DAS PLANTAS DANINHAS NA ERA DA BIOTECNOLOGIA, 1. , 2012. Campo Grande/MS. **Resumos...** XXVIII CBCPD, 2012. p. 191.
- 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), 2010.
- MAPA- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Brasil Projeções do Agronegócio 2010/2011 a 2020/2021. Disponível em <[http://www.agricultura.gov.br/arg\\_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/PROJECOES%20DO%20AGRONEGOCIO%202010-11%20a%202020-21%20-%200.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arg_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/PROJECOES%20DO%20AGRONEGOCIO%202010-11%20a%202020-21%20-%200.pdf)>. Acesso em: 03 de maio de 2014.
- MEHNAZ, S.; LAZAROVITS, G. Inoculation effects of *Pseudomonasputida*, *Ghiconacetobacter azotocaptans*, and *Azospirillum lipoferum* on corn plant growth under greenhouse conditions. **Microbial Ecology**. New York. v. 51, n. 3, p. 326-335, 2006.
- MORAIS. T. P.; Adubação Nitrogenada e Inoculação com *Azospirillum brasiliense* em Híbridos de Milho. **Teses e Dissertações**. Universidade Federal de Uberlândia, 2012.
- OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J.; Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **ASM News**, Ann Arbor, v.63, p.364-370, 1997.
- OLIVEIRA, C. A.; GOMES, E. A.; MATTOS, B. B.; TEXEIRA, J. M. A.; CRISTELLI, E. A.; DIAS F. E. S.; BARACHO, A. O.; MARRIEL, I. E.; Utilizacao de bioinoculantes para o cultivo do milheto (*Pennisetum glaucum*) com fontes naturais de fosfatos . Em: FertBio. Maceió, 2012.
- PIONNER, Efeitos do Nitrogênio: doses. **Revista Área Polo**, São Paulo, v.5, n. 11, p. 12-6, 1995.

**Tabela 1-** Produtividade média de milho com diferentes inoculantes em quatro níveis de N.

Tratamentos Inoculantes/Níveis de N	Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> )			
	N0	N1	N2	N3
E0	5483,93 a*	5944,10 a	6279,56 a	8168,55 b
E1	5588,13 a	7109,99 a	6943,48 a	7795,25 b
E2	5751,17 a	6896,79 a	7305,19 a	7038,88 a
E3	6059,12 a	6591,63 a	6772,55 a	7257,92 a
E4	5412,45 a	6978,90 a	7231,06 a	8520,01 b
E5	6444,24 a	6783,70 a	6432,40 a	6988,37 a
E6	5984,75 a	6213,95 a	7453,35 a	7491,04 a

\*médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% na coluna. N0= 0 ; N1= 40 ; N2= 80 e N3= 160 Kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura.