

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS CURITIBANOS**

HEVERTON FERNANDO MELO

**ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO DE SEMENTES
COM *Azospirillum brasilense* NA CULTURA DO MILHO**

**Curitibanos
2014**

HEVERTON FERNANDO MELO

**ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO DE SEMENTES
COM *Azospirillum brasilense* NA CULTURA DO MILHO**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo do curso de graduação em Agronomia da Universidade Federal de Santa Catarina, campus Curitibanos. Orientador: Prof. Dr. Samuel Luiz Fioreze.

**Curitibanos
2014**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Melo, Heverton Fernando
Adubação Nitrogenada e Inoculação de Sementes com
Azospirillum brasilense na Cultura do Milho / Heverton
Fernando Melo ; orientador, Samuel Luiz Fioreze -
Curitibanos, SC, 2014.
35 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos. Graduação em Agronomia.

Inclui referências

1. Agronomia. 2. Zea mays. 3. fixação biológica do
nitrogênio. 4. produtividade. I. Fioreze, Samuel Luiz. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Agronomia. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia

Rodovia Ulysses Guimarães km3

CP: 101 CEP: 89520-000 - Curitiba/SC

TELEFONE (048) 3721-2174 E-mail: agronomia_cba@contato.ufsc.br.

HEVERTON FERNANDO MELO

ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE COM *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* NA CULTURA DO MILHO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Colegiado do Curso de Agronomia, do Campus Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Samuel Luiz Fioreze

Data da defesa: 05 de Dezembro de 2014

MEMBROS COMPONENTES DA BANCA EXAMINADORA:

Presidente e Orientador: Samuel Luiz Fioreze

Titulação: Doutorado

Área de concentração em Agricultura

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Membro Titular: Jonatas Thiago Piva

Titulação: Doutorado

Área de concentração em Agronomia

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Membro Titular: Ana Carolina da Costa Lara Fioreze

Titulação: Doutorado

Área de concentração em Agricultura

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Local: Universidade Federal de Santa Catarina

Campus de Curitibanos

Com muito carinho, dedico este trabalho a minha mãe, por confiar e acreditar em mim, por ser compreensiva, por ser mãe. A ela, além dessa dedicatória, dedico a minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado a oportunidade de cada dia poder superar todas as dificuldades e seguir em frente com saúde e determinação.

A minha família que nos momentos mais difíceis me fez seguir em frente, não deixando que eu desistisse, me fazendo ser feliz no caminho que escolhi.

A minha mãe que foi amiga, mãe, companheira, e por muitas vezes conselheira, agradeço por ser essa referência em minha vida, por me fazer querer ser melhor à cada dia.

A Tia Eli agradeço a amizade, o apoio incondicional e incentivo. Agradeço os infinitos conselhos. Meu muito obrigado, por tudo.

Ao meu professor, orientador e amigo Dr. Samuel Luiz Fioreze, agradeço a confiança em mim depositada como aluno e orientado. Agradeço pelo suporte no tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos. Agradeço o conhecimento transmitido.

Aos professores Ana Carolina, Eduardo, Ivan, Jonatas, Kellen e todos os demais que de alguma maneira me oportunizaram tal conhecimento, agradeço a paciência, o ensino, a dedicação.

Aos meus amigos Antonio Eduardo, Cláudia, Dal Piva, Elaine, Luiz, Samuel e Thais, que me ajudaram e auxiliaram inúmeras vezes no trabalho de campo e coleta de dados. Muito obrigado.

Aos meus amigos Aline, Bruna, Elaine, Fábio, Jaqueline, Leandro, Tatiana, que durante anos estiveram do meu lado, estudando e confraternizando momentos únicos e felizes.

Aos meus amigos e companheiros de estágio na Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas/MG, agradeço a amizade, o convívio, a confiança, as palavras sinceras e o incentivo para sempre seguir em frente. Agradeço ao Dr. Paulo César Magalhães, a oportunidade que me deste de poder aprender um pouco mais dessa grande área que é a Agronomia.

E à todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

“Nada me perturbe. Nada me amedronte. Tudo passa, a paciência tudo alcança.

A quem tem Deus nada falta. Só Deus basta.”

Santa Tereza D’ Avila

RESUMO

A cultura do milho demanda grande quantidade de nutrientes, sendo que uma das principais limitações para alcançar altos rendimentos está relacionada ao uso e manejo da adubação nitrogenada (N). Deste modo, torna-se necessário estudar técnicas alternativas como a fixação biológica do nitrogênio (FBN) em gramíneas, que ocorre por meio de bactérias diazotróficas. O presente trabalho teve por objetivo estudar, em condições de campo, o crescimento e a produtividade do milho em função do tipo de inoculante e de doses de nitrogênio. O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental da Universidade Federal de Santa Catarina, situada no município de Curitibanos – SC. O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados, composto de seis tratamentos com quatro repetições. Os tratamentos constaram da aplicação de 100% de N isolado, da combinação entre a aplicação de 50% da dose recomendada de N com duas formulações (turfoza e líquida) de um inoculante contendo bactérias do gênero *Azospirillum brasilense* e comparada com um inoculante já registrado no mercado, além de uma testemunha sem aplicação de N e sem inoculação. A dose de 100% de N aplicado promoveu aumento significativo na produtividade, alcançando 9175,9 kg ha⁻¹. A inoculação com *Azospirillum brasilense* combinado com a aplicação de 50% N não aumentou a produtividade da cultura, não tendo diferenças na eficiência entre os tipos de inoculantes contendo *Azospirillum brasilense* para o crescimento e produtividade da cultura.

Palavras Chave: *Zea mays*, fixação biológica de nitrogênio, produtividade.

ABSTRACT

Maize demand large amounts of nutrients, and a major limitation to achieving high yields is related to the use and management of nitrogen fertilization, once the corn has a high demand to nitrogen (N). Therefore, it becomes necessary application of N in installments in coverage, increasing the efficiency of its use and reducing losses, mainly by leaching. It is necessary to consider alternative techniques such as biological nitrogen fixation (FBN) in grasses, which occurs through diazotrophs bacteria, whereas the N assimilated by FBN becomes less prone to leaching losses. In this sense, the present work aimed to study under field conditions, the growth and yield of corn depending on the type of inoculant and nitrogen levels. The experiment was carried out at the Experimental Farm of the Federal University of Santa Catarina, located in the municipality of Curitibanos - SC. The experimental design was a randomized block design with six treatments and four replications. The treatments consisted of applying 100% N alone, the combination of the application of 50% recommended dose of N with two formulations (liquid and peaty) of an inoculant containing bacteria of the genus *Azospirillum brasilense* and compared with an inoculant on record market, and a control without N application without inoculation. The dose of 100% of the applied N caused a significant increase in productivity, reaching 9175.9 kg ha⁻¹. Inoculation with *Azospirillum* combined with application of 50% N did not increase yield, having no differences in effectiveness between types of inoculants containing *Azospirillum brasilense* for growth and yield.

Key words: *Zea mays*, biological nitrogen fixation, productivity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Valores de precipitação (a) e temperatura média (b) no período de condução do experimento. Acumulado de chuva no período de 630 mm. Curitiba, 2014..... 20

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Atributos químicos de solo da área experimental na camada de 0-20 cm de profundidade, antes da instalação do experimento. Curitiba, 2014.....19
- Tabela 2** - Características biométricas de plantas de milho, cultivar 30F53Hx, em função da adubação nitrogenada e da inoculação de sementes com bactérias da espécie gênero *Azospirillum brasilense*. Curitiba, 2014.....23
- Tabela 3** - Concentração de nutrientes acumulado na parte aérea (folha e colmo) de plantas de milho, cultivar 30F53Hx, em função da adubação nitrogenada e da inoculação de sementes com bactérias da espécie *Azospirillum brasilense*. Curitiba, 2014.....25
- Tabela 4** - Componentes de produção e produtividade de plantas de milho, cultivar 30F53Hx, em função da adubação nitrogenada e da inoculação de sementes com bactérias da espécie *Azospirillum brasilense*. Curitiba, 2014.....27

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo Geral	15
2.2	Objetivos Específicos	15
3.	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1	O cultivo do milho no Brasil	15
3.2	Características morfofisiológicas de plantas de milho	16
3.3	Nitrogênio e a produtividade do milho	17
3.4	Fixação biológica de nitrogênio	18
3.4.1	Fixação associativa com <i>Azospirillum brasilense</i>	18
4.	MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1	Localização e período de realização do experimento	19
4.2	Delineamento experimental e tratamentos	20
4.3	Instalação e condução do experimento	21
4.4	Avaliações	22
4.4.1	Análise biométrica	22
4.4.2	Avaliação nutricional	22
4.4.3	Componentes de produção e produtividade	22
4.4.4	Análise Estatística	23
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6.	CONCLUSÃO	30
	REFERÊNCIAS	31

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um cereal de importância global, sobretudo por apresentar diferentes formas de uso. O Brasil atualmente ocupa o terceiro lugar no ranking mundial de produção de grãos de milho, sendo que considerando somente a produção primária, este cereal representa 37% da produção nacional de grãos (MAPA, 2014).

A cultura do milho demanda grande quantidade de nutrientes, sendo que uma das principais limitações para alcançar altos rendimentos está relacionada ao uso e manejo da adubação nitrogenada, uma vez que o milho apresenta uma alta exigência ao nitrogênio (N) (PIONNER, 1995; ANDRADE et al., 2003). Tendo em vista o aumento no uso e também no custo dos fertilizantes nitrogenados, cresce a preocupação com possíveis efeitos negativos em decorrência do uso excessivo deste adubo. Dessa maneira, torna-se um desafio fazer uma correta adubação nitrogenada, sem que haja falta ou excesso de N aplicado na cultura. Caso contrário, haverá um aumento no custo de produção da lavoura, assim como uma ineficiência produtiva em decorrência da falta, ou excesso desse nutriente assim como possíveis perdas e contaminação do ambiente (FERNANDES, LIBARDI, 2007). Logo, torna-se necessária aplicação de N na forma parcelada em cobertura, aumentando a eficiência do seu uso e reduzindo as perdas, principalmente por lixiviação (YAMADA, ABDALA, 2000; HUERGO, 2006; COELHO, 2007).

Deste modo, faz-se necessário estudar técnicas alternativas como a fixação biológica do nitrogênio (FBN) em gramíneas, que ocorre por meio de bactérias diazotróficas, sendo que o N assimilado através da FBN torna-se menos propenso a perdas por lixiviação (HUERGO, 2006). Essa associação é capaz de promover o desenvolvimento da cultura do milho e fornecer N à planta, proporcionando resultados positivos, reduzindo os custos de produção e unindo produtividade com a real demanda por N na cultura nos diferentes estádios de desenvolvimento, diminuindo assim a utilização de fertilizantes nitrogenados e aumentando a eficiência associativa da cultura com bactérias fixadoras de nitrogênio.

Especificamente para o milho, o *Azospirillum brasilense* é uma das bactérias que vem promovendo benefícios diretos e indiretos, dos quais são destacados o processo de fixação do N e a produção de fitormônios (auxinas, giberelinas e citocininas) os quais proporcionam um maior crescimento radicular (OKON, VANDERLEYDEN, 1997; DOBBELAERE, OKON, 2007), maior absorção de água e nutrientes, que ligado a outros fatores fisiológicos, faz com que ocorra um aumento na taxa fotossintética (CORREA et al., 2008) tendo como resultando uma planta mais vigorosa e produtiva (BASHAN et al., 2004; HUNGRIA, 2011). Vale ressaltar que nem todo o N necessário na cultura do milho é fornecido pela associação com a

bactéria. O que ocorre é uma forma de suplementação de N para a cultura, sendo esta uma forma de proporcionar redução no uso de fertilizantes nitrogenados (DÖBEREINER, 1992).

Este contexto evidencia a importância do desenvolvimento de pesquisas avaliando a viabilidade da inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio em gramíneas, na tentativa de constatar os benefícios desta tecnologia para a cultura do milho, otimizando assim o uso dessa simbiose *Azospirillum*/Milho, tendo como resultados acréscimos de produtividade e consequentemente a diminuição dos custos de produção (OKON, VANDERLEYDEN, 1997).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar o crescimento e a produtividade do milho em função do tipo de inoculante e de doses de nitrogênio.

2.2 Objetivos Específicos

Estudar o crescimento e a produtividade de plantas de milho submetidas à inoculação com *Azospirillum brasilense* em comparação com as doses de adubação nitrogenada;

Estudar as diferenças entre formulações de inoculantes contendo *Azospirillum brasilense* na cultura do milho.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 O cultivo do milho no Brasil

O milho é o terceiro cereal mais cultivado no mundo, depois do arroz e do trigo (AWIKA, 2011), produzido em quase todos os continentes, sendo que sua importância econômica é distinguida pelas diversas formas de utilização, que pode compreender desde a alimentação animal até a produção de produtos advindos do uso de altas tecnologias como embalagens biodegradáveis (FAOSTAT, 2006).

No Brasil, o cultivo do milho é amplamente difundido, sendo que isto se deve tanto à sua grande forma de uso nas propriedades agrícolas, quanto também à tradição de se cultivar esse cereal pelos agricultores (MAGALHÃES et al., 2002). Segundo Coelho (2007), o milho cultivado no Brasil nos últimos anos vem passando por importantes transformações tecnológicas, decorrente da conscientização dos produtores em busca de melhores índices produtivos, com o uso de diferentes sistemas de produção.

Coelho (2007) destaca que essa transformação visa um equilíbrio de produção com a melhoria na qualidade do solo e que está relacionada ao manejo adequado, incluindo práticas como a rotação de culturas, plantio direto, manejo da fertilidade do solo através da calagem em conjunto com uma adubação equilibrada com macro e micronutrientes por meio do uso de fertilizantes químicos e orgânicos.

Cabe ressaltar que essa transformação tecnológica, ainda é associada a produtores que tem disponibilidade de capital para investir em diferentes pacotes tecnológicos que resultem em aumentos significativos da produtividade e da produção, uma vez que pequenos produtores ainda tem aversão a mudanças no sistema de produção, decorrente da baixa

disponibilidade de capital e também de baixa instrução formal (MAGALHÃES et al., 2002). Diferenças observadas nos rendimentos agrícolas não são oriundas, somente das transformações tecnológicas (FANCELLI, DOURADO NETO, 2004; FORNASIERI-FILHO, 2007) mas sim, decorrentes de diversos fatores que afetam a cultura do milho, tais como adubação, as condições edafoclimáticas, manejo e a própria cultivar (MAGALHÃES et al., 2002).

Nesse prospecto, uma das variáveis decisivas da produção de milho, é a aquisição e o fornecimento de macro e micronutrientes para a cultura, entre os quais se sobressai o nitrogênio, por participar e afetar diretamente o desenvolvimento da planta, assim como do sistema radicular (MALAVOLTA, 2006), é por isso, que esse nutriente é absorvido em maior quantidade pela cultura do milho e também o mais limitante para a mesma.

3.2 Características morfofisiológicas de plantas de milho

O milho é uma planta que pertence à classe *Monocotyledonae*; Ordem *Poales*; família *Poaceae*; gênero *Zea*; espécie *Zea mays* (DOEBLEY, 1990). É uma gramínea anual, de metabolismo C₄ (GARCIA et al., 2006), que tem seu desenvolvimento limitado caso haja déficit hídrico (BERGONICI et al., 2001), sendo que este déficit pode afetar aspectos como: a expansão foliar, fotossíntese e outros processos como absorção de nutrientes e também a translocação de fotoassimilados (BERGAMASCHI, 1992).

Mangelsdorf (1974), descreve que a cultura de milho é altamente produtiva, porém, é uma planta dependente do homem para que possa sobreviver, pelo fato de ter um grau de domesticação muito grande. Contudo, o resultado geral da seleção natural e da domesticação fez com que a planta se tornasse anual, robusta e ereta, com um a quatro metros de altura, se tornando “arquitetada” para a produção de grãos (MAGALHÃES et al., 2002), apresentando inflorescências masculina e feminina, espiga, sendo que o fruto é classificado como cariopse (MAGALHÃES et al., 1994).

A planta de milho tem um ciclo bastante variado, em que pode ocorrer cultivares extremamente precoces até cultivares extremamente tardias, com um ciclo de aproximadamente 300 dias. Entretanto, em condições como às do Brasil, os cultivares variam de 110 dias até 180 dias de ciclo, englobando o estágio de semeadura até a colheita. Basicamente, o ciclo da cultura do milho compreende os seguintes estádios de desenvolvimento: germinação e emergência, crescimento vegetativo, florescimento, frutificação e maturidade (CASTRO, KLUNGE, 1999).

Para se obter uma maior facilidade, dividiu-se o ciclo da planta em 10 estádios de desenvolvimento, sendo que os estádios anteriores ao florescimento são caracterizados pelo número de folhas e, os estádios posteriores ao florescimento, são caracterizados pela consistência dos grãos (FANCELLI, DOURADO NETO, 1996).

3.3 Nitrogênio e a produtividade do milho

O nitrogênio (N) é o nutriente que as plantas requerem em maior quantidade, sendo que plantas deficientes em nitrogênio, apresentam sintomas característicos como amarelecimento das folhas mais velhas, ocorrendo em seguida clorose que pode se tornar generalizada e conseqüentemente ocorre perda foliar, sendo que até em alguns casos, pode ocasionar deformações nas espigas, mais especificamente nas pontas (MARTINS et al., 2008).

O N pode ser incorporado ao solo de diferentes maneiras, sendo: i) através de compostos orgânicos, com o incremento de restos vegetais e animais; ii) através de compostos inorgânicos, como os fertilizantes nitrogenados sintéticos; iii) através da fixação biológica, simbiótica. Contudo, quando o composto já se encontra no solo, o mesmo pode ser mineralizado, imobilizado ou perdido por diferentes processos, como a volatilização, lixiviação e/ou também pode ser extraído pelas plantas (MCSHAFFREY, 2006).

Segundo Malavolta (2006), o manejo do N tem sido uma das técnicas agrícolas mais estudadas, com o objetivo de aumentar a sua eficiência de uso. Essa necessidade é decorrente da maior parte do N presente no solo se encontrar em combinações orgânicas, sendo que essa forma torna-se indisponível para as plantas. Quando em condições apropriadas e satisfatórias na cultura o N proporciona à mesma, uma abundante vegetação com pigmentação verde, um acréscimo no número de folhagem assim como nos teores de proteínas das plantas, auxila no rápido crescimento e também favorece os microrganismos do solo, para que ocorra a decomposição da matéria orgânica. É por ter características como estas que o nitrogênio é o nutriente que causa maiores efeitos no acréscimo de produção da cultura do milho.

O N promove o aumento do peso de mil grãos (FERREIRA et al., 2001; AMARAL FILHO et al., 2005), aumento do número de espigas por planta (FERNANDES et al., 2005), aumento da altura de plantas e do peso de espigas (ARAÚJO et al., 2004), da produção de matéria seca (ARAÚJO et al., 2004; DUETE et al., 2008).

3.4 Fixação biológica de nitrogênio

Segundo Cantarella (2007), o nitrogênio disponível na natureza não pode ser assimilado pela maioria dos organismos, sendo que somente alguns organismos procariotos conseguem fazer essa assimilação do N atmosférico e transformá-lo em amônia (NH₃), sendo esse processo conhecido como fixação biológica do nitrogênio (FBN), o qual é realizado através do complexo enzimático nitrogenase. Azevedo (2010), destaca que a fixação biológica pode ser responsável por até 65% do N fixado na Terra.

Hungria (2011), destaca que em termos agrônômicos, a maior contribuição do processo de fixação biológica do nitrogênio ocorre pela associação simbiótica que ocorre entre as plantas da família *Leguminosae* (*Fabaceae*) juntamente com as bactérias pertencentes a diferentes gêneros e que são denominadas de rizóbios. Essa simbiose pode ser observada com facilidade nas raízes das leguminosas, pois ocorre a formação de estruturas chamadas de nódulos, que são estruturas especializadas no processo de fixação biológica do nitrogênio. Essa simbiose entre rizóbios e plantas leguminosas data de milhões de anos, sendo por esse motivo que as taxas mais altas de fixação biológica são verificadas nesse tipo de simbiose.

Segundo Hungria et al., (2007), no caso da cultura da soja, a FBN é capaz de suprir a necessidade total da cultura, a ponto de dispensar a adubação complementar, sendo que taxas superiores a 300 kg de N ha⁻¹ ano⁻¹ são observadas no Brasil, conseguindo suprir totalmente as necessidades da planta.

A inoculação de sementes com bactérias que realizem essa fixação é uma alternativa nos sistemas agrícolas, para diminuir o uso de adubações nitrogenadas mineral e, ao mesmo tempo, aumentar o número de microrganismos no solo capazes de fazer essa fixação biológica e disponibilizar nitrogênio para as plantas (BALDANI et al., 2002).

3.4.1 Fixação associativa com *Azospirillum brasilense*

O gênero *Azospirillum*, de bactérias associativas, é descrito por Dobereiner et al., (1987), como bactérias promotoras do crescimento de plantas, pois a associação destas bactérias com gramíneas para a fixação biológica do nitrogênio, faz com que ocorra a produção de hormônios, os quais estimulam o crescimento radicular da planta (TIEN et al., 1979). Uma vez que a planta tem seu sistema radicular mais desenvolvido, faz com que ocorra uma melhor absorção de água e nutrientes, tornando a planta mais tolerante a diferentes estresses abióticos (BASHAN et al., 2004).

Na fixação associativa com *Azospirillum brasilense* (*A. brasilense*), o mesmo complexo enzimático nitrogenase realiza a transformação do nitrogênio atmosférico em amônia (NH₃). Porém, as bactérias associativas do gênero *A. brasilense*, liberam apenas uma parte do nitrogênio que está fixado espontaneamente para a planta associada; em seguida, à mineralização que ocorre nas bactérias pode fornecer doses adicionais de nitrogênio para as plantas, entretanto, vale ressaltar que o processo de fixação biológica que ocorre através dessas bactérias consegue suprir apenas uma parte das necessidades das plantas.

Ao contrário das leguminosas, que pode ocorrer o suprimento total de nitrogênio através da simbiose planta/bactéria e concomitante formação de estrutura denominada de nódulos presente nas raízes, as bactérias do gênero *A. brasilense* fazem associação com as plantas, não nodulando (HUNGRIA et al., 2007), sendo que a inoculação de plantas não leguminosas com bactérias associativas, mesmo que essas consigam fazer a fixação biológica do nitrogênio, essa fixação não vai suprir totalmente as necessidades da cultura (HUNGRIA, 2011).

Contudo, mesmo com a capacidade de fixação reduzida, o uso dessa associação pode proporcionar uma economia de até 50% no uso de fertilizantes nitrogenados (HUNGRIA et al., 2010), estimulando assim o crescimento vegetal, aumentando também a produtividade e a concentração de nitrogênio em plantas de diferentes culturas (REIS et al., 2000).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Localização e período de realização do experimento

O experimento foi conduzido a campo, na fazenda experimental da Universidade Federal de Santa Catarina, campus de Curitibanos (SC) em um cambissolo háplico de textura argilosa (550 g kg⁻¹ de argila), no período de outubro de 2013 à março de 2014. O campo experimental está localizado nas coordenadas geográficas de 27°16'26.55" S e 50°30'14.41W, com altitude média de 1000 metros em relação ao nível do mar.

Tabela 1. Atributos químicos de solo da área experimental na camada de 0,0-0,2cm de profundidade, antes da instalação do experimento. Curitibanos (SC), 2014.

pH	Ca	Mg	Al	H+Al	K	SB	Sat.Al	V	SMP	MO	P	Cu	Fe	Zn	Mn
---	cmolc/dm ³						%		g/dm ³		mg/dm ³				
6,3	8,35	4,11	0	3,18	0,1	12,56	0	79,8	6,6	2,8	10,7	3,29	29,62	1,97	70,57

O clima da região, segundo a classificação de Köppen, denomina-se Cfb, mesotérmico úmido com inverno chuvoso e verão ameno, temperatura média entre 15°C e 25°C, com uma precipitação média anual de 1500 mm. Os valores médios de temperatura e precipitação pluviométrica para o período de condução do experimento são apresentados na Figura 1.

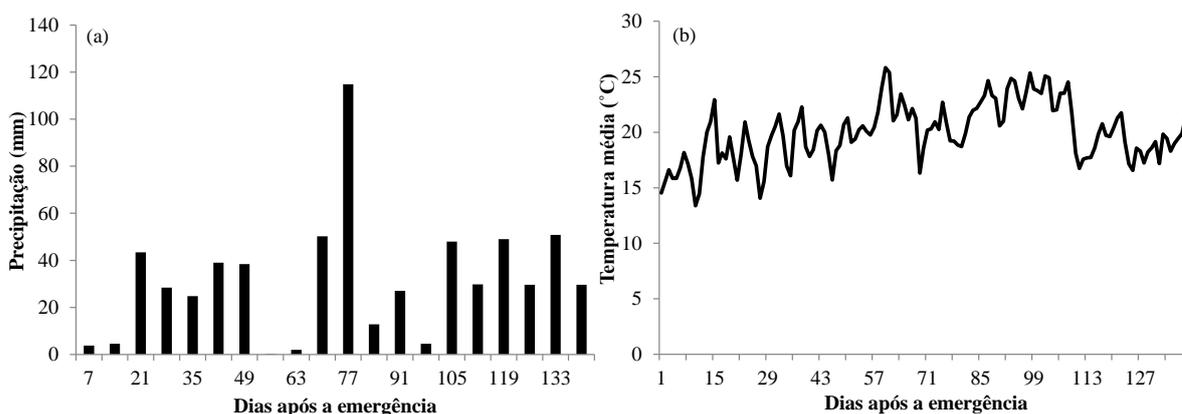


Figura 1. Valores de precipitação (a) e temperatura média (b) no período de condução do experimento. Acumulado de chuva no período foi de 630 mm. Curitiba, 2014.

4.2 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados, composto de seis tratamentos com quatro repetições, totalizando 24 unidades experimentais, conforme descrito na sequência:

- Tratamento 1 – Testemunha: sem nitrogênio e sem inoculante;
- Tratamento 2 – Tratamento com 100% da dose de nitrogênio mineral recomendado para a cultura de milho (160 kg ha⁻¹) e sem inoculante;
- Tratamento 3 – Tratamento com 50% da dose de nitrogênio mineral recomendado para a cultura de milho (80 kg ha⁻¹) e sem inoculante;
- Tratamento 4 – Tratamento com 50% da dose de nitrogênio mineral recomendado para a cultura de milho e sementes inoculadas com produto comercial registrado no MAPA;
- Tratamento 5 – Tratamento com 50% da dose de nitrogênio mineral recomendada para a cultura de milho e sementes inoculadas com formulação líquida do produto;

- Tratamento 6 – Tratamento com 50% da dose de nitrogênio mineral recomendada para a cultura de milho e sementes inoculadas com a formulação turfosa do produto.

Cada unidade experimental foi composta por seis linhas de cultivo, espaçadas 0,80 m entre si e com seis metros de comprimento, totalizando 28,8 m². Foram consideradas como parcela útil as quatro linhas centrais da parcela, descartando-se um metro de cada extremidade, totalizando 12,8 m². O inoculante testado foi o NITRO 1000[®] Gramíneas, contendo bactérias da espécie *Azospirillum brasilense*, estirpes AbV5 e AbV6. A dose de nitrogênio foi estabelecida com base nas necessidades da cultura para uma produtividade de 10 ton ha⁻¹ de grãos.

Utilizou-se o híbrido simples comercial 30F53Hx PIONNER[®], com as características de ciclo precoce, que possui elevado potencial produtivo e elevada resposta ao manejo da adubação e recomendado para a região sul do Brasil.

4.3 Instalação e condução do experimento

O experimento foi implantando em sistema de semeadura direta sobre palhada de aveia preta (*Avena strigosa*) em sucessão com a cultura do milho. Antes da implantação da cultura foram determinadas as características químicas do solo na profundidade de 0,0-0,2 m de profundidade (Tabela 1).

A semeadura foi realizada na segunda quinzena de outubro de forma manual, numa profundidade de três centímetros. As sementes de milho foram previamente tratadas com fungicida e inseticida, sendo que antes da semeadura foram inoculadas com bactérias do gênero *Azospirillum brasilense*, conforme os tratamentos, e imediatamente semeadas. Antes da semeadura, a área foi adubada com 450 kg ha⁻¹ do formulado NPK, 00-20-20, aplicado na linha de cultivo com uma semeadora adubadora, marcando assim as linhas de cultivo para a semeadura. A semeadura foi realizada com um equipamento denominado “bazzoca”, que permite o controle do número de sementes por cova e a distância entre plantas na linha de cultivo. Foram colocadas três sementes por cova, deixando-se apenas uma planta por cova após o desbaste, que ocorreu no estágio V1 do desenvolvimento.

A adubação de cobertura foi realizada apenas com nitrogênio mineral, conforme estabelecido pelos tratamentos, tendo-se como fonte a ureia (45% de N). A dose de 80 kg ha⁻¹, foi dividida em duas, sendo metade na base e metade em cobertura no estágio V6 do

desenvolvimento da cultura. Para a dose de 160 kg ha⁻¹, aplicou-se 40 kg ha⁻¹ na base, 60 kg ha⁻¹ no estágio V4 do desenvolvimento da cultura e 60 kg ha⁻¹ no estágio V7.

O controle de plantas daninhas foi realizado de forma manual, com capina em toda a área experimental. Devido a não ocorrência de pragas e doenças não foi necessário a aplicação de defensivos agrícolas no período.

4.4 Avaliações

4.4.1 Análise biométrica

A análise biométrica das plantas foi realizada nos estádios fenológicos V8 e R2. Foram coletadas e avaliadas 3 plantas por parcela para determinação de: i) massa de matéria seca de folhas, ii) massa de matéria seca do colmo, iii) massa de matéria seca das estruturas reprodutivas (quando presentes) iv) área foliar.

Para a determinação da massa de matéria seca, as plantas de milho foram cortadas rente ao solo, sendo que a biomassa coletada foi separada nos componentes descritos e acondicionados em sacos de papel para secagem em estufa de circulação forçada de ar a uma temperatura de 60°C até atingir peso constante. Após a pesagem o material foi submetido à moagem para realização da análise nutricional.

4.4.2 Avaliação nutricional

Foram avaliados os teores de macronutrientes N, P e K na parte aérea (colmos e folhas), sendo que estes foram determinados pela quantidade de nutrientes que a cultura extraiu até o estágio vegetativo V8.

4.4.3 Componentes de produção e produtividade

Para a avaliação dos componentes de produção, foram coletadas 15 plantas por parcela, onde foram avaliados a altura de inserção da espiga, comprimento da espiga, diâmetro de espiga, o número de fileiras por espiga e número de grãos por fileira. Após a debulha, foram determinados a massa de grãos por espiga e a massa de mil grãos.

Com as demais plantas da parcela útil, foi avaliada a produtividade a partir da debulha e pesagem dos grãos, com peso corrigido para 13% de teor de água, com base nas Regras para Análise de Sementes – RAS - (BRASIL, 2009), sendo os dados extrapolados para área de um hectare.

4.4.4 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p < 0,05$). Quando detectadas diferenças significativas, as médias foram contrastadas pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 são apresentados os dados de comparação de médias para as características biométricas, onde se observou que a massa de matéria seca total no estádio V8 (MST V8), massa de matéria seca foliar (MSF) e área foliar (AF) não ocorreu efeito significativo entre os tratamentos. As características de massa de matéria seca do colmo (MSC) e massa de matéria seca total no estádio R2 (MST R2) não apresentaram variações significativas entre os tratamentos que receberam adubação nitrogenada, porém estes superaram a testemunha (0 N sem *A. brasilense*). Com relação a característica de massa de matéria seca de espiga (MSE) foi verificado diferenças estatísticas entre os tratamentos.

Tabela 2. Características biométricas de plantas de milho, cultivar 30F53Hx, em função da adubação nitrogenada e da inoculação de sementes com bactérias da espécie *Azospirillum brasilense*. Curitiba (SC), 2014.

TRATAMENTO	MST V8 (g)	MSF (g)	MSC (g)	MSE (g)	MST R2 (g)	AF (cm ²)
0 N sem Az	19,48 ^{ns}	44,10 ^{ns}	65,30 b	1,75 d	111,12 b	436,10 ^{ns}
160 kg N sem Az	35,75 ^{ns}	90,95 ^{ns}	161,65 a	38,60 a	281,23 a	647,41 ^{ns}
80 kg N sem Az	39,50 ^{ns}	59,72 ^{ns}	120,38 a	15,30 c	195,40 a	539,31 ^{ns}
80 kg N com Az Padrão	37,45 ^{ns}	60,67 ^{ns}	132,03 a	24,28 b	217,00 a	519,37 ^{ns}
80 kg N com Az líquido	39,05 ^{ns}	67,70 ^{ns}	133,03 a	18,50 c	219,25 a	632,05 ^{ns}
80 kg N com Az turfoso	32,27 ^{ns}	59,75 ^{ns}	124,45 a	25,58 b	215,78 a	594,46 ^{ns}
Pr>Fc	0,062	0,027	0,003	0,0002	0,001	0,066
CV (%)	27,1	25,8	20,3	36,2	20,4	17,4

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$); NS: não significativo CV: coeficiente de variação; MST V8: massa de matéria seca total de plantas no estádio V8; MSF: massa de matéria seca de folhas no estádio R2; MSC: massa de matéria seca do colmo no estádio R2; MSE: massa de matéria seca de espiga no estádio R2; MST: massa de matéria seca total de plantas no estádio R2; AF: área foliar.

Com base nos resultados apresentados, observa-se que as sementes de milho cultivadas em diferentes doses de N e/ou formas de inoculantes contendo *A. brasilense* aumentaram significativamente a MSE em relação ao tratamento testemunha, dissociadamente de alterações na MSC e MST R2 onde não houve efeito significativo dos tratamentos que receberam adubação nitrogenada (Tabela 2). Observa-se que as melhores respostas para a MSE foram obtidas com a aplicação da dose cheia de N (160 kg ha⁻¹) onde ocorreu um acréscimo 36,85g de MSE em relação à testemunha, e com dose reduzida de N

(80 kg ha⁻¹) combinado com *A. brasilense* turfoso e *A. brasilense* padrão, onde ocorreu um acréscimo de 23,83g e 22,53g em relação a testemunha.

O presente resultado concorda com o encontrado por Ferreira et al. (2001) onde analisando o efeito das doses de N (0, 70, 140 e 210 kg ha⁻¹) sobre as características agronômicas do milho, evidenciaram que a massa de matéria seca da espiga teve um aumento significativo, sendo esse aumento influenciado pelo incremento nas doses de N. Assim sendo, uma planta bem nutrida em N é capaz de se desenvolver apresentando um maior crescimento da área foliar e do sistema radicular, pois este nutriente influencia a divisão, a expansão celular e a fotossíntese (BÜLL, 1993; VARVEL et al. 1997) e, com consequente desenvolvimento da parte aérea, incluindo a palha da espiga. Por sua vez, a deficiência de N pode antecipar a senescência foliar devido ao retranslocamento de N das folhas mais velhas para os pontos de crescimento, diminuindo a área foliar fotossinteticamente ativa. Esse processo promove significativa queda no rendimento da cultura, principalmente pela redução do comprimento e do diâmetro das espigas, peso de espigas e de grãos (WOLSCHICK et al., 2003).

A inoculação com *A. brasilense* proporciona um acréscimo de massa seca nas plantas, sobretudo se a associação ocorrer entre bactéria e genótipos não melhorados e em condições de baixa disponibilidade de N (OKON, VANDERLEYDEN, 1997). Além destes fatores, o estado nutricional da planta, a existência de microrganismos competidores e a escolha da estirpe também são fatores que podem influenciar na interação entre a planta de milho e a bactéria e afetar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio (QUADROS, 2009).

Na Tabela 3, estão apresentados os teores de macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) acumulados na parte aérea de plantas de milho no estágio vegetativo V8. Para os macronutrientes N e K não ocorreu efeito significativo entre os tratamentos, diferentemente do macronutriente P que apresentou efeito significativo entre os tratamentos.

Tabela 3. Concentração de nutrientes acumulados na parte aérea (folha e colmo) de plantas de milho, cultivar 30F53Hx, em função da adubação nitrogenada e da inoculação de sementes com bactérias da espécie *Azospirillum brasilense*. Curitibaanos (SC), 2014.

TRATAMENTO	N (g kg ⁻¹)	P (g kg ⁻¹)	K (g kg ⁻¹)
0 N sem Az	13,0 ^{ns}	3,45 a	14,1 ^{ns}
160 kg N sem Az	13,8 ^{ns}	2,81 b	17,0 ^{ns}
80 kg N sem Az	13,4 ^{ns}	1,93 c	22,5 ^{ns}
80 kg N com Az Padrão	14,0 ^{ns}	2,17 c	17,9 ^{ns}
80 kg N com Az líquido	12,9 ^{ns}	2,78 b	17,6 ^{ns}
80 kg N com Az turfoso	12,9 ^{ns}	2,25 c	21,1 ^{ns}
Pr>Fc	9,08	15,14	20,74
CV (%)	0,67	0,00	0,08

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0.05$); NS: não significativo; CV: coeficiente de variação; N: nitrogênio; P: fósforo; K: potássio.

Ocorreu diferença significativa entre os tratamentos para o fósforo (P), com a aplicação de N combinado ou não ao uso de *A. brasilense* e sem N e sem *A. brasilense* (Tabela 3). A maior concentração de P ocorreu na testemunha com 3,45 g kg⁻¹, seguido pelos tratamentos com aplicação da dose cheia de N e dose reduzida combinada com *A. brasilense* com um acúmulo de 2,81 g kg⁻¹ e 2,78 g kg⁻¹ respectivamente. Contudo, tal concentração leva em consideração à produção de MST V8 (Tabela 2). Sendo assim, a maior concentração de P presente na testemunha se deu pelo fato da mesma apresentar menor produção de matéria seca, tornando o P mais concentrado numa menor proporção de matéria seca total. Conseqüentemente, a menor concentração de P nos demais tratamentos ocorreu por conta do aumento da produção da matéria seca total. Assim sendo, os tratamentos submetidos à aplicação de N e uso do *A. Brasilense* apresentaram menores concentrações de P devido a diluição do mesmo na matéria seca total. Vale ressaltar que a Tabela 2 não apresentou diferença estatística para a MST V8, contudo apresentou diferença numérica entre os tratamentos. Os dados obtidos corroboram com os apresentados por Machado et al., (1999) que na ausência de efeitos significativos para a produção de matéria seca do milho, constatou efeito significativo entre os tratamentos para o acúmulo de P.

Conforme a Tabela 3, o teor de P nas plantas de milho variou em função do fornecimento de N e da inoculação. Segundo Marschner (1995) o fornecimento de N nos estádios iniciais favorece uma maior absorção de P. Logo, por ser um nutriente essencial as plantas e participar como um componente estrutural dos ácidos nucleicos, fosfolipídios e adenosina trifosfato (ATP) e particularmente para a FBN (RICHARDSON, SIMPSON, 2011), infere-se que o presente resultado evidencia que há uma relação sinérgica entre o N e P, sendo que com o fornecimento de N parcelado em cobertura houve um aumento na

absorção e concentração de P no milho. Tal efeito já foi relatado por Machado et al., (2004) e Reis Júnior et al., (2008b), que trabalhando com diferentes doses de N, verificaram diferentes concentrações de P e aumento do mesmo com a aplicação de N.

O milho apresenta baixa eficiência de aproveitamento deste nutriente (VITTI et al., 1985) devido as fontes de P disponíveis no solo estarem em formas insolúveis, não estando disponíveis para a nutrição do milho (KHAN et al., 2007). Porém, bactérias do gênero *A. brasilense* possuem a capacidade de solubilizar fosfatos inorgânicos presente no solo, convertendo-o para a forma orgânica disponível para a planta, ampliando a capacidade de absorção da mesma (GYANESHWAR et al., 2002). Os resultados obtidos contrastam com os apresentados por Qil et al., (2011) em que observaram que houve um aumento na concentração de P quando as plantas foram submetidas a inoculação de sementes, evidenciando tal efeito.

Por fim, um argumento relevante em relação a solubilização do fósforo por bactérias diazotróficas – *A. brasilense* – segundo Richardson (2001), refere-se ao modo de ação desses microrganismos, pois não há como garantir a sincronia entre a liberação de fósforo e a absorção pelas plantas. Outro ponto chave refere-se ao modo de ação desses microrganismos, pois mesmo que haja a conversão do P inorgânico presente no solo para a forma orgânica, a quantidade solubilizada seria suficiente apenas para suprir as necessidades dos microrganismos envolvidos nessa conversão, sendo muitas vezes insuficiente para promover aumentos significativos na quantidade de P disponível para a planta (KHAN et al., 2007).

Na Tabela 4 são apresentadas as características de produção e produtividade, onde não ocorreu efeito significativo entre os tratamentos com e sem inoculação de *A. brasilense* e adubação de N para o diâmetro de colmo (DC) e número de fileiras por espiga (NFE), no entanto estes superaram a testemunha. O tratamento referente a aplicação de 100% N resultou em uma maior altura de inserção de espiga (AI). Verificou-se que ocorreu efeito significativo sobre o diâmetro de espiga (DE), comprimento de espiga (CE), número de grãos por fileira (NFG), número de grãos por espiga (NGE), massa de grãos por espiga (MGE) e produtividade pela dose de 100% N aplicado, o qual proporcionou os melhores resultados; contudo, não houve efeito significativo da inoculação de *A. brasilense* em combinação com o N em dose reduzida. Houve efeito da dose de 100% de N aplicado e da dose de 50% de N em combinação com *A. brasilense* para o peso de mil grãos, exceto para o tratamento com 50% de N combinado com *A. brasilense* líquido que não diferiu estatisticamente da testemunha.

Tabela 4. Componentes de produção e produtividade de plantas de milho, cultivar 30F53Hx, em função da adubação nitrogenada e da inoculação de sementes com bactérias da espécie *Azospirillum brasilense*. Curitiba (SC), 2014.

TRATAMENTO	DC (mm)	AI (cm)	NFE	DE (mm)	CE (cm)
0 N sem Az	21,0 b	82,4 b	14,0 b	44,0 c	10,7 c
160 kg N sem Az	24,2 a	145,7 a	15,8 a	52,2 a	18,1 a
80 kg N sem Az	23,4 a	128,3 b	15,2 a	48,5 b	14,5 b
80 kg N com Az Padrão	23,6 a	131,6 b	15,4 a	48,6 b	15,0 b
80 kg N com Az líquido	23,4 a	127,3 b	15,2 a	47,9 b	14,7 b
80 kg N com Az turfoso	23,7 a	130,4 b	15,6 a	49,3 b	15,5 b
Pr>Fc	0,006	0,000	0,027	0,000	0,000
CV (%)	4,3	7,7	4,5	2,8	8,0
	NGF	NGE	MGE (g)	PMG (g)	PROD (kg ha ⁻¹)
0 N sem Az	21,2 c	295,5 c	80,9 c	273,4 c	1954,4 c
160 kg N sem Az	35,4 a	560,8 a	177,4 a	316,7 a	9175,6 a
80 kg N sem Az	26,8 b	407,7 b	120,0 b	293,5 b	6501,1 b
80 kg N com Az Padrão	26,7 b	411,9 b	122,7 b	297,9 b	5935,2 b
80 kg N com Az líquido	26,4 b	402,1 b	110,4 b	274,3 c	5813,9 b
80 kg N com Az turfoso	28,3 b	440,2 b	128,7 b	292,8 b	7308,8 b
Pr>Fc	0,000	0,000	0,000	0,004	0,000
CV (%)	10,5	14,0	14,2	4,7	15,9

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0.05$); CV: coeficiente de variação; DC: diâmetro do colmo; AI: altura de inserção da espiga; NFE: número de fileiras por espiga; DE: diâmetro da espiga; CE: comprimento da espiga; NGF: número de grãos por fileira; NGE: número de grãos por espiga; MGE: massa de grãos por espiga; PMG: peso de mil grãos; PROD: produtividade.

De acordo com os resultados obtidos, não houve efeito significativo decorrente da combinação inoculante e dose de nitrogênio sobre os componentes de produção e produtividade, exceto para a característica do PMG, o qual apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Observou-se que a adubação nitrogenada resultou em maiores médias para os componentes de produção e produtividade quando aplicado em dose cheia (160 kg ha⁻¹).

Houve efeito significativo para o tratamento com aplicação de N em dose cheia, onde todos os componentes avaliados responderam significativamente à dose de N aplicado, exceto o DC e o NFE em que a testemunha diferiu significativamente dos demais tratamentos, obtendo a menor média (Tabela 4). Resultados semelhantes são encontrados na literatura, onde diversos experimentos já realizados sob diversas condições de solo, clima e sistemas de cultivo e descritos por diferentes autores, evidenciam o efeito significativo da adubação nitrogenada sobre os componentes de produção e produtividade do milho (GROVE et al., 1980; COELHO et al., 1992; AMARAL FILHO et al., 2005; GOMES et al., 2007; SANGOI; ERNANI; SILVA, 2007; GAVA et al., 2010; MELO; CORÁ; MILTON, 2011).

Para a característica de PMG, ocorreu diferença significativa entre os tratamentos com a aplicação de N combinado ou não ao uso de *A. brasilense*, exceto para o tratamento com 50% de N combinado com *A. brasilense* líquido que foi semelhante a testemunha (Tabela 4). A maior média obtida foi com a aplicação de N em dose cheia, onde ocorreu um acréscimo de 43,3g no PMG em relação à testemunha. Os dados corroboram com os apresentados por Amaral Filho et al. (2005), onde testando diferentes doses de adubação nitrogenada (0, 50, 100 e 150 kg ha⁻¹) obteve um aumento de forma linear no PMG. Contudo, Escosteguy et al. (1997), comparando doses de N, que variaram de 0 a 160 kg ha⁻¹, não alcançaram diferenças significativas com relação a essa variável. Logo, quando não limitada por outros fatores, a maior disponibilidade de N aumenta o potencial da planta em definir maiores número e massa de grãos por espiga, o que por sua vez acarretará em um aumento na massa total (POTTKER, WIETHOLTER; 2004).

O milho é uma cultura que demanda o uso de grandes quantidades de N quando se almeja alcançar altas produtividades (CASTELLEN, 2005; BARROS NETO, 2008). Deste modo, infere-se que a aplicação da dose completa de N em cobertura promoveu o aumento da produção, influenciando no enchimento de grãos, o que proporcionou maior massa média de grãos e portanto uma maior produtividade (Tabela 4). A diferença na produtividade final foi de 7221,2 kg ha⁻¹ entre os tratamentos que obtiveram a maior e a menor produção de grãos, sendo que a maior produtividade foi alcançada com a aplicação de 160 kg ha⁻¹ de N em cobertura, obtendo 9175,6 kg ha⁻¹. Os demais tratamentos não apresentaram diferenças entre si, exceto a testemunha que apresentou a menor produtividade. O presente resultado sustenta os dados obtidos por Queiroz et al., (2011) em que avaliando o efeito de diferentes doses de N (40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹), obteve acréscimos na produtividade com o aumento da dose de N aplicado, sendo que o tratamento com a maior dose de N (160 kg ha⁻¹), resultou em uma produtividade de 7914,08 kg ha⁻¹.

Outros trabalhos na literatura evidenciam efeito significativo das doses de N aplicado em cobertura na produtividade do milho. Silva et al., (2006a) obtiveram no sistema de plantio direto implantado em cinco anos, a produtividade de 8.280 kg ha⁻¹, com a quantidade de 205 kg ha⁻¹ de N; Fernandes et al., (2005) verificaram produtividade máxima com a dose de 110 kg ha⁻¹ de N em cobertura.

Com relação à ausência de efeitos significativos para a inoculação, os elementos que interferem na resposta do milho frente à inoculação de sementes com *A. brasilense* ainda não estão totalmente esclarecidos. Os resultados positivos que são encontrados na literatura referente à associação planta – *A. brasilense* estão relacionados, em sua maioria, a fatores da

própria bactéria que está sendo utilizada, como a escolha da estirpe, o tipo de inoculante, o número ideal de células por sementes e sua viabilidade (MEHNAZ, LAZAROVITS, 2006). Todavia, sua eficiência depende de inúmeros fatores, e pode ser prejudicada decorrente de estarem associadas livremente à planta, seja na rizosfera ou no interior dos tecidos da planta, tornando-se muito sensíveis ao ambiente e suas variações (GYANESHWAR et al., 2002), assim como o genótipo da própria planta pode vir a interferir no sucesso da inoculação (REIS et al., 2000; INIGUEZ et al., 2004); e muitas vezes as características do solo têm sido frequentemente associadas à ausência de resposta à inoculação (DOBBELAERE et al., 2002).

Arsac et al. (1990) relatam que a concentração da bactéria na solução do inoculante é mais importante que a dose, pois a concentração bacteriana ótima e que promove o desenvolvimento de plantas de milho é de 10 milhões de células viáveis ml^{-1} . Assim, níveis acima do ótimo apresentam efeito inibitório do desenvolvimento das plantas inoculadas e ausência de efeitos sobre o milho e os parâmetros avaliados. Porém, o produto comercial utilizado neste experimento, continha estirpes da bactéria *A. brasilense* em concentração mínima de 200 milhões de células viáveis ml^{-1} . Neste caso, pode se inferir que a ausência de resposta à inoculação pode estar relacionada ao excesso de bactérias formadoras de colônias.

6. CONCLUSÃO

A inoculação de sementes de milho com bactéria *Azospirillum brasilense* não aumentou a produtividade da cultura, mesmo com metade da dose da adubação nitrogenada.

Não existiram diferenças na eficiência entre os tipos de inoculantes contendo *Azospirillum brasilense* para o crescimento e produtividade.

REFERÊNCIAS

- ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O.; LENG, E.R. **Modern corn production**. 2.ed. Champaign: A & L Publication, 1982. 371 p.
- AMARAL FILHO, J.P.R.; FORNASIERI FILHO, D.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J. C. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, n.3, p.467-473, 2005.
- ANDRADE, A.C.; FONSECA, D.M. da; QUEIROZ, D.S.; SALGADO, L.T.; CECON, P. R. Adubação nitrogenada e potássica em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier). **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, Especial ed., p.1643-1651, dez. 2003.
- ARAÚJO, L.A.N.; FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P. Adubação nitrogenada na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.8, p.771-777, 2004.
- ARSAC, J. F.; LAMOTHE, C.; MULARD, D.; J. FAGES, J. Growth enhancement of maize (*Zea mays* L.) through *Azospirillum lipoferum* inoculation: effect of plant genotype and bacterial concentration. **Agronomie**, Paris, v. 10, p. 640-654, 1990.
- AWIKA, J.M. Major cereal grains production and use around the world. In: AWIKA, J.M.; PIIRONEN, V.; BEAN, S. (eds.) **Advances in cereal science: implications to food processing and health promotion**. Washington: ACS Symposium Series: American Chemical Society, v.1089, p.1-13, 2011.
- AZEVEDO, P.T.M. **Minhocas, fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em mudas de Araucária angustifolia**. 77p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba. 2010.
- BALDANI, J.I. et al. **Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria**. Potencial biotecnológico de bactérias diazotróficas associativas e endofíticas. Caxias do Sul: EDUCS, 2002. 433p.
- 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.
- BARROS NETO, C. R. de. **Efeito do nitrogênio e da inoculação de sementes com *Azospirillum brasiliense* no rendimento de grãos de milho**. 2008. 29 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná.
- BERGAMASCHI H. **Agrometeorologia aplicada à irrigação**. Porto Alegre: UFRGS, Ed.Universidade. p.25-32. 1992.
- BERGONCI, J.I.; BERGAMASCHI, H.; SANTOS A.O.; FRANÇA, S.; RANDIN, B. Eficiência da irrigação em rendimento de grãos e matéria seca de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.7, p. 949-956, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

- BÜLL, L.T. Nutrição mineral do milho. In: BÜLL, L.T.; CANTARELLA, H. (ed.). **Cultura do milho**: Fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: POTAFOS, 1993. p. 63-146.
- CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B. & NEVES, J.C.L., eds. Fertilidade do solo. Viçosa, MG, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 2007. p.375-470.
- CASTELLEN, P. **Análise estrutural e funcional da região glbna de *Azospirillum brasilense***. 2005, 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciências - Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Paraná.
- CASTRO, P. R. C. KLUNGE, R. A. **Ecofisiologia de Cultivos Anuais: trigo, milho, soja, arroz e mandioca**. São Paulo, 125 p., 1999.
- COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E.; BAHIA FILHO, A.F.C. Nutrição e adubação do milho forrageiro. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. **Milho para silagem: tecnologias, sistemas e custo de produção**. Sete Lagoas, 1991. p.29-73.
- COELHO, A. M. **Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho**. Circular Técnica 96. Embrapa, Sete Lagoas, MG; Dezembro, 2007.
- COELHO, A.M. et al. **Nutrição e adubação do milho**. In: CRUZ, J.C. (eds.) Sistema de Produção. Sete Lagoas: EMBRAPA, 2010.
- COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E. de; BAHIA FILHO, A.F.C.; GUEDES, G.A.A. Doses e métodos de aplicação de fertilizantes nitrogenados na cultura do milho sob irrigação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.16, p.61-67, 1992.
- CORREA, O.S.; ROMERO, A.M.; SORIA, M.A.; DE ESTRADA, M. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, p.87-95, 2008.
- DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F.O. **Nitrogen-fixing bacteria in non leguminous crop plants**. Science Tech, Springer Verlag, Madison, USA, 1987. p. 1-155. (Brock/Springer series in contemporary bioscience).
- 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: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 173-180, 1992.
- DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. 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**, v.36, p.284-297, 2002.
- DOBBELAERE, S.; OKON, Y. **The plant growth-promoting effect and plant responses**. In “Associative and Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations” (Elmerich, C.; Newton, W.E. eds.), p. 145-170. Springer, Dordrecht, The Netherlands. 2007.
- DOEBLEY, J. F. Molecular evidence for gene flow among *Zea* species. **BioScience**, v. 40, p. 443 – 448, 1990.

DUETE, R. R. C.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C.; TRIVELIN, P. C. O.; AMBROSANO, E. J. Manejo da adubação nitrogenada e utilização do nitrogênio (15N) pelo milho em Latossolo Vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.161-171, 2008.

ESCOSTEGUY, P.A.V.; RIZZARDI, M.A. & ARGENTA, G. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na cultura do milho em duas épocas de semeadura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 21:71-77, 1997.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. 2ª ed. Guaíba: Agropecuária, 2004. 360p.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Seminário sobre fisiologia e manejo de água e nutrientes na cultura do milho de alta produtividade**. Piracicaba. p. 9-20., 1996.

FAOSTAT. **Agricultural data**. FAO, 2006. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat/collections?version=ext&hasbulk=0&subset=agriculture>> acesso em: 14 de novembro de 2013.

FERNANDES, F.C.S.; BUZETTI, S.; ARF, O.; ANDRADE, J.A.C. Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.4, n.2, p.195-204, 2005.

FERNANDES, F. C. S.; LIBARDI, P. L. Percentagem de recuperação de nitrogênio pelo milho, para diferentes doses e parcelamentos do fertilizante nitrogenado. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.6, n. 3, p. 285-296, 2007.

FERREIRA, A.C.B.; ARAÚJO, G.A.A.; PEREIRA, P.R.G.P.; CARDOSO, A.A. Características agronômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. **Scientia Agricola**, v.58, n.1, p.131-138, 2001.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 2007. 576p.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. **Adequação da Metodologia Kjeldahl para Determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta**. Circular Técnica 63. Embrapa, Corumbá, MS; Maio, 2006.

GAVA, G. J. de C.; OLIVEIRA, M. W.; SILVA, M. de A.; JERÔNIMO, E. M.; CRUZ, J. C. S.; TRIVELIN, P. C. O. Produção de fitomassa e acúmulo de nitrogênio em milho cultivado com diferentes doses de 15N-uréia. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 851-862, 2010.

GARCIA, J.C.; MATTOSO, M.J.; DUARTE, J.O.; CRUZ, J.C. **Aspectos econômicos da produção e utilização do milho**. Circular Técnica 74. Embrapa, Sete Lagoas, 2006.

GOMES, R. F.; SILVA, A. G. da; ASSIS, R. L. de; PIRES, F. R. Efeito de doses e da época de aplicação de nitrogênio nos caracteres agronômicos da cultura do milho sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 5, p. 931-938, 2007.

GROVE, L.T.; RITCHEY, K.D.; NADERMAN JUNIOR, G.C. Nitrogen fertilization of maize on Oxisol of the cerrado of Brasil. **Agronomy Journal**, Madison, v.27, p.261-265, 1980.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G. N.; PAREKH, L. J.; POOLE, P. S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant Soil**, v.245, p.83-93, 2002.

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.

HUERGO, L.F. **Regulação do metabolismo do nitrogênio em *Azospirillum brasilense***. 2006. Tese (Doutorado Pós-Graduação em Ciências Bioquímica) - Ciências Bioquímica, Universidade federal do Paraná, Curitiba, 2006. 170 p.

HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**. The Hague. v.331, p.413-425, 2010.

HUNGRIA, M.; **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 20p.

INIGUEZ, A. L.; DONG, Y.; TRIPLETT, E. W. Nitrogen fixation in wheat provided by *Klebsiella pneumoniae* 342. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.17, p.1078-1085, 2004.

KHAN, M. S. ZAIDI, A. WANI, P. A. **Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture – A review**, *Agron Sustain. Dev* 27:29-43. 2007.

MACHADO, C. T. T. GUERRA, J. G. M. ALMEIDA, D. L. MACHADO, A. T. Variabilidade entre genótipos de milho para eficiência no uso de fosforo. **Bragantina**, v.58, n.1, p,109-24, 1999.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho**. Circular Técnica, 20. Sete Lagoas, MG; 1994.

MAGALHÃES, P. C.; et al. **Fisiologia do Milho**. Circular Técnica 22. Embrapa, Sete Lagoas, MG; Dezembro, 2002.

McSHAFFREY, D. **Environmental Biology: ecosystems**. The nitrogen cycle, 2006. Disponível em: <<http://www.marietta.edu/~biol/102/ecosystem.html>>. Acesso em: 04 novembro de 2013.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Editora Ceres, 2006. 631p.

MANGELSDORF, P. C. **Corn: its origin, evolution, and improvement**. Harvard: University Press, 262 p., 1974.

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Brasil Projeções do Agronegócio 2010/2011 a 2020/2021**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/PROJECOES%20DO%20AGRONEGOCIO%202010-11%20a%202020-21%20-%202020_0.pdf> Acesso em: 03 de outubro de 2014.

MACHADO, C. T. T. et al. Acumulação de nitrogênio, fosforo e zinco e índices de eficiência de utilização e translocação de nutrientes em milho submetidos a dois níveis de adubação nitrogenada. Viçosa. **Anais**. 2004.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.

MARTINS, A. O. et al. Nitrogen-use efficiency of maize genotypes in contrasting environments. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v.8, p.291-298, 2008.

MEHNAZ, S.; LAZAROVITS, G. Inoculation effects of *Pseudomonasputida*, *Ghiconacetobacter azotocaptans*, and *Azospirillum lipoferum* on com plant growth iinder greenhouse conditions. **Microbial Ecology**. New York. v. 51, n. 3, p. 326-335, 2006.

MELO, F. de B.; CORÁ, J. R.; MILTON, J. Fertilização nitrogenada, densidade de plantas e rendimento de milho cultivado no sistema plantio direto. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 27-31, 2011.

NOVAKOWISKI, J. H.; SANDINI, I. E.; FALBO, M. K.; MORAES, A.; NOVAKOWISKI, J. H.; CHENG, N. C. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum* brasileiro na cultura do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, p. 1687-1698, 2011. Suplemento 1.

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.

PIONNER. Efeitos do Nitrogênio: doses. **Revista Área Polo**. São Paulo, v.5, n. 11, p. 12-6, 1995.

PÖTTKER, D.; WIETHÖLTER, S. Épocas e métodos de aplicação de nitrogênio em milho cultivado no sistema plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1015-1020, 2004.

QUADROS, P. D. **Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. 2009. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

QUEIROZ, A. M. et al. Avaliação de diferentes fontes e doses de nitrogênio na adubação da cultura do milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.10, n.3, p. 257-266, 2011.

REIS, V.M; BALDINI, J.I; BALDINI, V.L.D; DOBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm Trees. **CRC Criticai Review in Plant Science**. Boca Ratou, v.19, p.227-247, 2000.

REIS JÚNIOR, F. B. et al. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v,32, n.3, p 1139-1146, 2008b.

RICHARDSON, A. E. Prospects for using soli microorganisms to improve the acquisition of phosphous by plants. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v. 28, p. 897-906, 2001.

RICHARDSON, A. E. SIMPSON, R. J. Soil Microorganisms Mediating Phosphorus Availability. **Plant Physiology**. 156:989-996. 2011.

SANGOI, L.; ERNANI, P. R.; SILVA, P. R. F. da. Maize response to nitrogen fertilization timing in two tillage systems in a soil with high organic matter. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 31, n. 3, p. 507-517, 2007.

SILVA, D. A.; VITORINO, A. C. T.; SOUZA, L. C. F.; GONÇALVES, M. C.; ROSCOE, R. Culturas antecessoras e adubação nitrogenada na cultura do milho, em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 5, n. 1, p. 75-88, 2006a.

TIEN, T.M.; GASKINS, M.H.; HUBBELL, D.H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v.37, p.1016-1024, 1979.

VARVEL, G.E.; SCHPERS, J.S.; FRANCIS, D.D. Ability for in-season correction of nitrogen deficiency in corn using chlorophyll meters. **Soil Science Society of America Journal**, v. 61, n. 4, p. 1233-1239, 1997.

VITTI, G.C.; MALAVOLTA, E. Fosfogesso - uso agrícola. In: SEMINÁRIO SOBRE CORRETIVOS AGRÍCOLAS, 1985, Piracicaba. **Anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1985.

WOLSCHICK, D.; CARLESSO, R.; PETRY, M. T; JADOSKI, S. O. Adubação nitrogenada na cultura do milho no sistema plantio direto em ano com precipitação pluvial normal e com “El Niño”. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 27, p. 461-468, 2003.

YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S. **Como melhorar a eficiência da adubação nitrogenada do milho?** Informações Agronômicas, Piracicaba: POTAFOS, n.91, p.1-5, 2000.