

Resposta da cultura do milho sobre efeito de inoculação em diferentes dosagens de nitrogênio

Fernando Zuchello¹; Cleiton Frigo²; Leandro dos Santos Barbosa³; Paula Fernanda Chaves Soares⁴

¹Faculdade Concórdia, Professor de Agronomia

²Universidade Federal do Paraná, Mestrado Ciência do Solo

³Faculdade Concórdia, Discente de Agronomia

⁴Universidade Iguaçu, Professor de Engenharia Civil

Zuchello@gmail.com, leandro_sementesagroceres@outlook.com, cleiton.frigo.agro@gmail.com, Pfernanda07@gmail.com

Resumo - Estudos realizados com a inoculação de *Azospirillum brasilense* nas culturas de interesse econômico do grupo das gramíneas têm demonstrado grandes benefícios ao crescimento e desenvolvimento das plantas, pela produção de alguns hormônios dos vegetais e da fixação biológica de nitrogênio que trazem efeitos positivos ao meio ambiente, reduzindo a necessidade de adubação nitrogenada. Contudo, estirpes eficientes e genótipos promissores, devem ser associados para que se obtenham benefícios com essa associação. Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a resposta de um híbrido de milho à associação com *A. brasilense* e adubação nitrogenada. O delineamento experimental empregado foi em esquema fatorial 1x2x5 com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos no híbrido de milho P-4285YHR; inoculação ou não de produto comercial a base de *A. brasilense*, e cinco doses de N (0, 72, 117, 162 e 207 kg ha⁻¹). Foram avaliados os parâmetros: Altura de planta, comprimento e diâmetro de espiga, peso total de grãos por parcela, verificação da produtividade e análise a viabilidade. Houve interação entre inoculação e adubação nitrogenada no estágio vegetativo da cultura e adubação nitrogenada para a produtividade. O híbrido respondeu as variáveis analisadas e a aplicação de doses crescentes de N proporcionou incrementos para variáveis de produtividade. Houve influência da inoculação com *A. brasilense* na cultura, que apresentaram incremento em presença da inoculação.

Palavras-chaves: *Zea mays* L., Bactérias diazotróficas, *Azospirillum brasilense*

Abstract - Studies carried out with the inoculation of *Azospirillum brasilense* on crops of economic interest of the grasses group have shown great benefits to the growth and development of the plants, by the production of some plant hormones and biological nitrogen fixation that bring positive effects to the environment, reducing the need for nitrogen fertilization. However, efficient strains and promising genotypes should be associated in order to obtain benefits from this association. The objective of evaluating the response of a corn hybrid to the association with *A. brasilense* and nitrogen fertilization. The experimental design used in a 1x2x5 factorial scheme with four replications. The treatments were constituted in maize hybrid P-4285YHR; inoculation or not of commercial product based on *A. brasilense*, and five doses of N (0, 72, 117, 162 and 207 kg ha⁻¹). The following parameters evaluated: plant height, spike length and diameter, total grain weight per plot, productivity check and viability analysis. There was interaction between inoculation and nitrogen fertilization at the vegetative stage of the crop and nitrogen fertilization for yield. The hybrid responded to the analyzed variables and the application of increasing doses of N provided increases for productivity variables. There was influence of the inoculation with *A. brasilense* in the culture, which presented increase in presence of the inoculation.

Key words: *Zea mays* L., Diazotrophic bacteria, nitrogen doses, *Azospirillum brasilense*

1 Introdução

Mediante o crescimento populacional exponencial das últimas décadas (FAO 2017) a preocupação com segurança alimentar e nutricional aliada a sustentabilidade tem ganhado foco. Cada vez mais, se faz necessário o aumento de produtividade para atender a população sem degradar o meio ambiente. Neste cenário, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) pelas bactérias diazotróficas rizosféricas é uma das tecnologias que está sendo utilizadas para redução de insumos agrícolas, com acréscimo de produtividade e com um ganho muito importante para o meio ambiente pela minimização da emissão de gases de efeito estufa (Mapa 2014).

O milho (*Zea Mays*) é um cereal largamente utilizado para alimentação humana e animal, possuindo excepcionais qualidades nutricionais: fonte de vitaminas, carboidratos, aminoácidos e sais minerais e estando presente na manutenção da dieta humana (Menlir et al. 2008). Servindo de para alimentação humana *in-natura* ou como matéria prima para subprodutos como doces, cremes, sucos, saladas, sorvetes, etc. , e para a alimentação animal serve de matéria prima para rações balanceadas, sendo um dos principais ingredientes com função de fornecer energia ao animal (Zardo e Lima 1999).

Toda via, a cultura do milho é muito exigente em nutriente, sendo o nitrogênio o elemento mineral mais importante e que limita sua produtividade (Giracca et al. 2015). Para suprir a demanda da cultura são realizadas adubações nitrogenadas com elevadas doses de N, porém, os fertilizantes nitrogenados elevam o custo de produção, e somado a essa questão, o fertilizante nitrogenado mais utilizado (uréia) é derivado de petróleo, portanto, um recurso energético não renovável com grande impacto ao meio ambiente (Dotto et al.2010).

Assim a FBN surge como alternativa para viabilizar uma produção com menores custos, além de minimizar o impacto ambiental causado pela emissão de N₂O. Dessa forma, a utilização do potencial genético das plantas, aliado aos recursos biológicos do solo, como as bactérias fixadoras de nitrogênio apresenta grande potencial para suprir a demanda da cultura fixando nitrogênio (N₂), sendo um desafio para uma agricultura sustentável (Graham e Vance 2000)

A FBN é largamente utilizada em leguminosas, já em gramíneas é mais recente, existindo divergências de autores quanto sua eficiência. Godoy et al., (2011) utilizaram como inoculante cepas de *Azospirillum brasilence* e não encontraram respostas positivas da inoculação sobre a produtividade do milho. Por outro lado, Hungria et al., (2010) avaliaram o uso de *Azospirillum brasilence* sobre o milho e encontraram um aumento em 30% na produtividade em relação ao controle sem inoculação, enquanto Xu et al, (2018) testando diferentes estirpes afirma que o houve crescimento das plantas aumentando em pelo menos um parâmetro ou na concentração de nutrientes das plantas de milho.

Diante disso, está pesquisa tem como objetivo avaliar a resposta do milho sobre efeito de inoculação com *Azospirillum brasilense* em diferentes dosagens de nitrogênio fornecendo informações para os agricultores.

2 Material e métodos

O experimento foi desenvolvido a campo no Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Catarinense - Campus Concórdia localizado na Rodovia SC 283 - Km 08 - Bairro Fragosos - Concórdia - Santa Catarina está em uma longitude de 52° 5'0,08'' O, latitude 27° 12'10,36'' S e altitude média de 639 metros. O clima da região, segundo a classificação de Köppen e Geiger é subtropical úmido (Cfa), com temperatura média de 18.4 °C e pluviosidade média anual de 1878 mm.

O delineamento experimental foi em esquema fatorial 1 x 2 x 5, com quatro blocos. O primeiro fator refere-se aos híbridos simples de milho, P-4285YHR, com ciclo produtivo precoce; o segundo fator é relativo à inoculação ou não de produto comercial a base de *Azospirillum brasilense* (líquido); e o terceiro fator refere-se às diferentes doses de N em adubação de cobertura. Cada parcela experimental contou com 6 linhas de plantio com espaçamento de 0,5 m entre linhas e 5 metros de comprimento totalizando 12,5 m² por parcela, considerando parcela útil as 4 linhas centrais e desconsiderando 1 metro das laterais como bordadura e os corredores de 1 m de largura entre parcelas e 1 m de largura entre blocos totalizando área total do experimento de 775,5 m².

Para inoculação das sementes foi utilizado um produto comercial líquido (Nitro1000®) com composição de *Azospirillum brasilense*, estirpes AbV5 e AbV6, vitaminas, sais minerais, fonte de carbono, água, espessante, conservante e estabilizante PVP (aquoso) com concentração de $2,0 \times 10^8$ células viáveis por mL. A inoculação foi realizada adicionando-se o inoculante, na proporção de 100 mL do produto para 60.000 sementes, com auxílio de pipetas, diretamente sobre as sementes, em sacos plásticos. Posteriormente agitado por aproximadamente 2 minutos para uniformizar a distribuição do produto nas sementes. A massa de sementes foi mantida à sombra por 10 minutos e logo em seguida feita a semeadura.

A adubação de base foi realizada no dia 16 de outubro de acordo com as análises de solo e recomendações conforme descritas pela Comissão de Química e Fertilidade do Solo - CQFS-RS/SC (2004). Foram adicionados no sulco de semeadura 27 kg ha⁻¹ de N, 99 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 36 kg ha⁻¹ de K₂O, utilizando-se como fonte o adubo de formulação 09- 33-12, e aplicação realizada com semeadora adubadora de arrasto e trator.

A semeadura foi realizada em 20 de outubro utilizando-se o sistema de semeadura direta feita com semeadora manual deixando-se 7 sementes por metro linear. Após 15 dia da emergência (DAE), foi realizado o desbaste mantendo uma população 3,5 plantas por metro linear, num total de 70.000 plantas ha⁻¹.

A adubação de cobertura, foi realizada em duas etapas, uma no estágio V4 e outra V8, nas dosagens de 0, 45, 90, 135 e 180 kg ha⁻¹ de N utilizando ureia como fonte de N.

As avaliações foram feitas em estágio R6 (maturação fisiológica) da cultura, sendo colhidas 10 espigas da área útil previamente delimitada. Foi determinando o comprimento médio e diâmetro de espiga com régua graduada. O peso total de grãos foi obtido pelo somatório das massas de grãos das 10 espigas.

A análise estatística foi feita com auxílio do software estatístico R. Para testar a normalidade e homogeneidade das variâncias dos erros foram utilizados os testes de Shapiro Wilck de Cochran & Bartley, respectivamente. Com os pressupostos atendidos, foi realizada a análise de variância (ANOVA) com a aplicação do teste F e, para as variáveis, cujo teste F for significativo, as médias foram comparadas, uma a uma, pelo teste Tuckey, (P<0,05).

3 Resultados

O peso total de grãos não inoculado para todas as doses diferiram significativamente, observando incremento de peso juntamente com a elevação nas dosagens, isso já se era esperado já que o híbrido escolhido é de alta tecnologia e responsável a adubação nitrogenada. A mesma situação ocorre para os tratamentos inoculado. Ulger et al. (1995) constataram estreita ligação entre o teor de N presentes nas folhas e os componentes de rendimento, como número de grãos por espiga e massa de grãos, exercendo influência no enchimento de grãos e

na produtividade da cultura.

Houve diferença significativa entre as doses inoculadas e as não inoculadas, onde o inoculado obteve maior peso de grãos, com elevação gradual na massa produzida nas parcelas onde foi aplicado as maiores doses de adubação nitrogenada. Quanto ao tratamento inoculado a produtividade média foi de 188 sacas ha^{-1} , e a menor de 45 sacas, para as doses de 207 kg ha^{-1} de N e de 0 kg ha^{-1} de N (Figura 1).

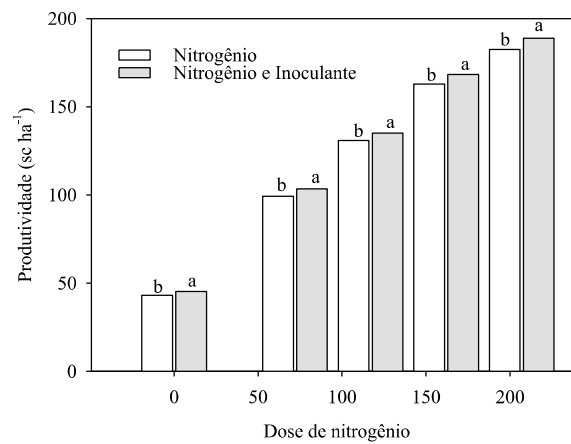


Figura 1 - Produtividade em sacas por hectare, para cada dose utilizada no experimento. Médias seguidas de mesma letra dentro de cada dose não diferem entre si pelo teste de Tukey $p < 0,05$

Nota-se que quanto maior a dose de N maior a diferença de produtividade do inoculado para o não inoculado, Dobbelaere (2002) verificaram que o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* estirpe Sp 245 e *Azospirillum irakense* estirpe KBC1 foi maior quando associado às doses de N. Para as doses de nitrogênio utilizadas, o aumento da produtividade de 0 a 207 kg N ha^{-1} , no tratamento não inoculado, elevou linearmente a produtividade das plantas (Figura 2). Já para as doses em que foi associado a inoculação a resposta foi também linear, com a produtividade 45 a 188 sacas por hectare.

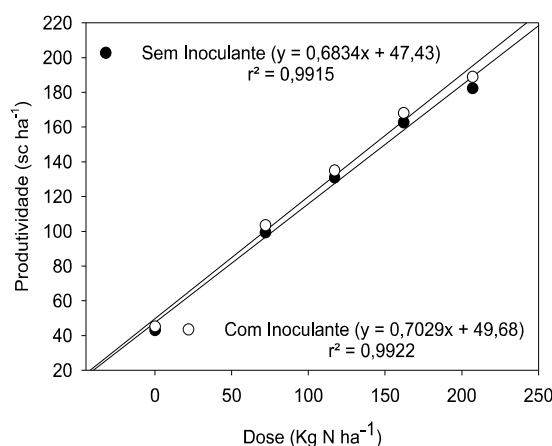


Figura 2 - Regressão entre a produtividade em sacas por hectare e as doses de nitrogênio utilizadas no experimento, para os tratamentos inoculados e não inoculados.

Houve incremento linear na produtividade de grãos de milho na faixa de doses de N em cobertura testadas, com aumento de 1,3kg de grãos para cada quilograma de N aplicado em cobertura ($\hat{Y} = 0,7029x + 49,68$; $R^2 = 0,99$, $p < 0,05$). Isso comprova os resultados obtidos na maioria dos trabalhos com aplicação de N em cobertura no milho (Ohland et al. 2005; Pandolfo et al. 2006; Farinelli e Lemos 2012), demonstrando ser uma cultura exigente em nitrogênio e responsiva à aplicação desse nutriente.

Na comparação entre os tratamentos, o inoculado sempre foi superior ao não inoculado. Ferreira et al. (2009), ao estudarem o efeito de diferentes doses de N para três genótipos de milho, constataram que o aumento das doses de N proporcionou reflexo direto na produtividade de grãos. A superioridade da inoculação foi de 2,2 sacas para a dose de 0 kg ha⁻¹ de N, 4 sacas par as doses de 72 e 117 kg ha⁻¹ de N, de 5,3 sacas para a dose de 162 kg ha⁻¹ de N e de 6,4 sacas para a dose de 207 kg ha⁻¹ de N (Figura 3).

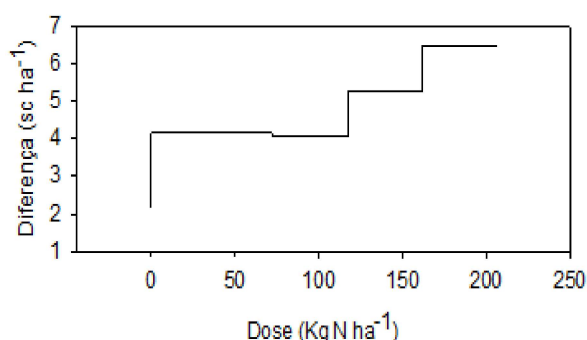


Figura 3 - Diferença de produtividade em sacas por hectare, para cada dose utilizada no experimento.

Na média dos tratamentos, independente da dose de N aplicada em cobertura, verifica-se que o uso de inoculante nas sementes propiciou acréscimos na produtividade do milho em relação a não inoculação.

Se considerarmos o baixo custo por área do inoculante e levarmos em conta o ganho financeiro que se pode ter pelo uso do inoculante e ainda com possibilidade de redução no uso de N mineral, vale afirmar que essa é uma tecnologia promissora que merece atenção por parte dos agricultores para uma maior difusão. O custo do produto comercial a base de *A. brasilense* utilizado no experimento foi de aproximadamente R\$ 20,00 para cada 1L e cada litro atende de 3 a 5 hectare. Ponderando o acréscimo de produtividade alcançado com a inoculação e relacionando ao tamanho da propriedade o agricultor pode ter um aumento de renda considerável caso utilize inoculação de *Azospirillum brasilense*.

4 Conclusão

Os híbridos de milho apresentam comportamento diferenciado quanto à maioria das variáveis analisadas, houve maiores rendimentos com a utilização do inoculante a base de *Azospirillum brasilense*. Percebe-se que há viabilidade econômica no uso dessa tecnologia, já que o custo por hectare é baixo e ganho de produtividade foi comprovado, como visto por Hungria et al. (2010), a inoculação com *A. brasilense*, proporcionou 24 a 30% de incremento no rendimento em relação a ausência de inoculação e Braccini et al.

(2012) notaram que a inoculação das sementes com estirpes Abv5 e Abv6 de *A. brasilense*, proporcionou incremento de produtividade do milho quando comparado aos tratamentos sem inoculação.

O aumento da produtividade devido à inoculação com *Azospirillum* nos ensaios conduzidos no Brasil foi correlacionado não só com o aumento do N, mas também com outros nutrientes, como o P e K, fato também relatado em outros países (Bashan e Holguin 1997; Bashan et al. 2004).

Em relação aos níveis de N utilizados, os resultados mostram que, na média, houve um incremento significativo no número e na massa das espigas com o uso do nutriente. Esse efeito positivo do N sobre o rendimento do milho é conhecido e reforça a importância do elemento para a cultura. Segundo Bredemeier & Muddstock (2000), o N atua diretamente no desenvolvimento do milho, influenciando o rendimento da planta mais do que qualquer outro nutriente.

Nos parâmetros avaliados a realização de inoculação demonstrou-se como uma eficiente alternativa para alavancar a produtividade da cultura do milho. Também efeitos significativos no crescimento e produção das plantas de milho foram obtidos com uma combinação de bactérias indicando uma interação desconhecida ou talvez uma especificidade entre o genótipo da planta e a estirpe bacteriana (Bashan e Holguin 1997). Outro estudo foi realizado em sorgo por García-Olivares et al. (2006) testando diversas cepas de *Azospirillum brasilense* que observaram um incremento na biomassa de grãos quando utilizada a inoculação, segundo os autores houve diferenças significativas entre as cepas na produção de grãos, devido principalmente às condições ambientais variáveis durante a colonização de cada cepa, segundo eles a inconsistência de resultados se deve a diversos fatores que são difíceis de identificar.

A utilização de inoculação do milho se torna uma nova ferramenta disponível e viável para os agricultores do Oeste Catarinense, justificada pelos índices observados no acréscimo na produtividade. Em estudos realizados por Campos et al. (2000) na cultura do milho, testando inoculante à base de uma estirpe de *Azospirillum* sp., os autores observaram, que o produto testado não incrementou o rendimento de grãos. Estes resultados foram atribuídos a escolha da estirpe que não foi suficientemente eficiente, e destacam a necessidade de se buscar e testar estirpes adaptadas a cada região em termos de clima, sistema de manejo e cultivares.

Em um extenso estudo em um conjunto de nove ensaios realizados em Londrina e Ponta Grossa, Sul do Brasil, com nove estirpes de *Azospirillum*, Hungria et al. (2010) concluíram que as cepas de *A. brasilense* AbV4, AbV5, AbV6 e AbV7 aumentaram o rendimento de grãos de milho de 662 a 823 kg ha⁻¹, 24 a 30%, em relação ao controle não inoculado. Em um segundo ensaio conjunto, com oito experimentos em Londrina e Ponta Grossa, com inoculantes a base de *A. brasilense*, as cepas AbV5 e AbV6 aumentaram o rendimento de milho em 26% (Hungria et al., 2010). Os autores afirmam que os efeitos da inoculação foram atribuídos ao aumento geral da absorção de macro e micronutrientes e não especificamente a fixação biológica de nitrogênio. Também Cavallet et al. (2000) utilizando a inoculação de um produto comercial (Graminante[®]) à base de *Azospirillum* sp. teve como resultado um aumento significativo rendimento de grãos de milho de 17%.

Porém, a imprevisibilidade dos resultados de inoculação, positivos e negativos, como o demonstrado por este estudo, é o que tem limitado o uso comercial destes organismos como inoculantes na agricultura. Os possíveis fatores desta imprevisibilidade podem ser: a competitividade do inoculante com a população nativa de microrganismos, dificuldades na formulação de inoculantes (manutenção da viabilidade, alto número de células e estágio do crescimento), baixa sobrevivência das estirpes inoculadas nos diferentes solos, agentes microbianos adversos, especificidade do inoculante, entre outros (Bashan e Holguin, 1997).

Percebe-se que há viabilidade econômica no uso dessa tecnologia, já que o custo por hectare é baixo

frente ao ganho de produtividade comprovado, além da inoculação com *Azospirillum brasilense* ser uma tecnologia de baixo impacto ambiental. No entanto, sua indicação técnica ainda precisa ser melhorada, levando-se em conta, entre outros fatores, os genótipos e o nível de investimento adotados na lavoura. Adicionalmente, é necessário buscar e estudar novas estirpes e formulações de inoculantes para aumentar a eficiência da inoculação com o objetivo de diminuir a dose de fertilizantes nitrogenados ou aumentar o rendimento de grãos da cultura do milho.

5 Agradecimentos

Ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Catarinense – Campus Concórdia pela recepção e disponibilização da área experimental. A FACC - Faculdade Concórdia pelo apoio metodológico e suporte acadêmico para realização deste trabalho. A Universidade Iguazu - UNIG pelas as contribuições feitas ao trabalho.

6 Referências

- Bashan Y, Holguin G (1997) *Azospirillum* – plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). Canadian Journal of Microbiology, 43:103-121
- Bashan Y, Holguin G, DE-Bashan LE (2004) *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). Canadian Journal of Microbiology, 50:521-577
- Braccini LA, Dan LGM, Piccinin GG (2012) Albrecht, L.P.; Barbosa, M.C.; Ortiz, A.H.T. (2012) Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associate with the use of bioregulators in maize. Caatinga. 25:58-64
- Bredemeier C, Mundstock CM. (2013) Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. Ciência Rural, 30:365-372
- Campos BC, Theisen S, Gnatta V (2000) Avaliação do inoculante “Graminante” na cultura de milho. Ciência Rural, Santa Maria, v. 30 (4): 713-715
- Cavallet LE, Pessoa ACS, Helmich, JJ, Helmich PR, OST CF (2000) Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* sp. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, 4(1):129-132
- Dobbelaere S (2002) Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and A. (2002) *irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. Biology and Fertility of Soils.
- Dotto AP, Lana MC, Steiner F, Frandoloso JF (2010) Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio Revista Brasileira de Ciências Agrárias, 5(3): 376-382
- Farinelli R, Lemos LB (2012) Nitrogênio em cobertura na cultura do milho em preparo convencional e plantio direto consolidados. Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, 42 (1): 63-70

Ferreira AO, Sá JCM, Briedis C, Figueiredo AG (2009) Desempenho de genótipos de milho cultivados com diferentes quantidades de palha de aveia-preta e doses de nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 44:173-179.

Food and Agriculture Organization, (2017) Estado da Segurança Alimentar e da Nutrição no Mundo. <http://www.fao.org/state-of-food-security-nutrition/es/>, Acessado em 28 de Abr de 2018.

Giracca EMN, Nunes JLS (2015) Nitrogênio (N) – Fertilizantes. Agrolink. Disponível em: http://www.agrolink.com.br/fertilizantes/nutrientes_nitrogenio.aspx Acesso em 28 de Abr de 2018.

Godoy JC, Watanabe SH, Fiori CCC, Guarido RC (2011) Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio com e sem inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. *Campo Digital*. 6:26-30.

Graham PH, Vance CP (2000) Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. *Field Crops Res*, v. 65(2-3): 93-106.

Hungria M, Campo RJ, Souza EMS, Pedrosa FO (2010) Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant Soil*. 331:413–425.

Menlir A, Liu W, White WS, Maziya-Dixon B, Rocheford T (2008) Carotenoid diversity in tropical-adapted yellow maize inbred lines. *Food Chemistry* 109, 521-529.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2014) Fixação Biológica do Nitrogênio. Programa ABC – Agricultura de Baixo Carbono.

Ohland RAA, Souza LCF, Hernani LC (2005) Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*, v.29 (3) 538-544

Pandolfo CM, Veiga M, Massignam AM (2006) Resposta do milho à adubação nitrogenada quando cultivado em sucessão a plantas de cobertura de inverno, no sistema plantio direto. *Agropecuária Catarinense*, v.19(3):79-83

Ulger AC, Becker A, Kant G. (1995) Response of various maize inbred line and hybrids to increasing rates of nitrogen fertilizer. *Journal of Agronomy and Crop Science* 159:157-165.

Xu J, Kloepper JW, Huang P, McInroy JA, Hu CH (2018) Isolation and characterization of N₂-fixing bacteria from giant reed and switchgrass for plant growth promotion and nutrient uptake. *Jornal of Basic Microbiology*. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700535>