

## DOSES DE INOCULANTE *Azospirillum brasilienses* NA CULTURA DO MILHO *Zea mays*.

### INOCULANT OF DOSES *Azospirillum brasiliensis* IN MAIZE *Zea mays*.

<sup>1</sup>Vieira, J. C. M.; <sup>1</sup>Silva, F. E.; <sup>1</sup>Targino, V.; <sup>1</sup>Souza, J. P.; Facco, J.; <sup>1</sup>Otoboni, C. E. M.

<sup>1e2</sup>Departamento de Ciências Biológicas –Faculdades Integradas de Ourinhos-FIO/FEMM

#### RESUMO

O milho é uma importante cultura para a agricultura brasileira. Bactérias diazotróficas tem sido testadas nesta cultura para aumentar os nutrientes para as plantas, principalmente o nitrogênio. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial do uso de *Azospirillum brasilienses*, por inoculação de sementes, no desenvolvimento de plantas de milho. Para isto, sementes comerciais de milho foram tratadas com diferentes concentrações de inoculante com *A. brasilienses*. Após isto, foram semeadas em vasos dentro de casa de vegetação e analisadas os parâmetros de desenvolvimento das plantas. Os resultados mostraram que o inoculante somente teve efeito sobre o peso verde das plantas e a melhor dosagem do produto foi a de 100 mL/60.000 sementes.

**Palavras-chave:** Bactérias Diazotróficas. Nitrogênio. Fixação de Nitrogênio.

#### ABSTRACT

The corn is a important crop for brazilian agriculture. Diazotrophics bacteria have been tested in this crop to improve the nutrientes to the plants, mainly the nitrogen. The aim of this paper was to evaluate the potencial of the use of *Azospirillum brasilienses*, by seed inoculation, in the development of corn plants. For this, seeds of comercial corn were treated with diferents concentrations of inoculant with *A. brasiliensis*. After, were seeded in vases into green house, and analysed for plants development parameters. The results of this study showed that the inoculant had efect on green weight of the plants, only, and the best dosage of the product was 100 mL/60,000 seeds.

**Keywords:** Diazotrophs Bacterium. Nitrogen. Nitrogen Fixation.

#### INTRODUÇÃO

O milho *Zea mays L.* é uma gramínea originária do centro Mexicano, e centro secundário Sul Americano, pertence à família Poaceae (MAGALHÃES, 2002).

Segundo a FIESP (2016) (Federação das Indústrias do Estado de São Paulo), no seu ultimo levantamento, da Safra Mundial de Milho 2016/17 e 2º Levantamento do USDA, o Brasil se enquadra em 3º lugar no ranking de produção, com 75,5 Milhões de toneladas na safra 15/16 e 82,0 Milhões de toneladas na safra 16/17.

Conforme a Conab (2013) os rendimentos são superiores a 8.000 Kg/ha em todos os estados produtores de milho safrinha e as maiores produtividades são de lavouras que emprega elevada tecnologia. No ano de 2016 a produtividade teve crescimento de 4,7% atingindo 6.164 Kg/ha, na média de produção em relação o que aconteceu na safra passada (CONAB, 2016).

As principais utilizações do milho no mundo são as atividades de criação de aves e suínos. Existem previsões de que a demanda mundial de carnes continue crescendo e estimativas apontam consumo superior a 110 milhões de toneladas de carne suína e quase 70 milhões de toneladas de carne de frango, até o ano de 2015 (EMBRAPA 2012). Devido a baixa disponibilidade do produto e os altos preços do grão, juntamente com a retração dos preços da carne, principalmente a do suíno, tem causado prejuízos dentro da cadeia produtiva, tornando inviável sua permanência na atividade (CONAB, 2016).

Contudo pode ocorrer baixa produtividade da cultura do milho, além de poder estar relacionada, com pragas, doenças, condições ambientais adversas, pode ser causada pela falta de nutrientes, principalmente o nitrogênio (N), pelo qual a cultura é bastante exigente, é um dos principais fatores que limitam o crescimento e rendimento de grãos, plantas supridas com N terão bom desenvolvimento radicular e, maior produtividade (Silva et al., 2013). A falta deste nutriente causa amarelecimento das folhas mais velhas, que se inicia em formato de “V”, progredindo ao longo da nervura principal; seguida de necrose e dilaceramento, colmos finos, clorose generalizada e perda foliar (SUBEDI et al. 2009).

Segundo Cantarella (2007) sabe-se que alguns microorganismos, como *Azospirillum brasilienses* conseguem assimilar o N atmosférico e transforma-lo em  $NH_3$  processo chamado de fixação biológica, responsável por aproximadamente 65% de N fixado na terra.

As de bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP) podem estimular o crescimento das plantas por diversas maneiras, sendo as mais relevantes: capacidade de fixação biológica de nitrogênio; aumento na atividade da redutase do nitrato; produção de hormônios como auxinas, citocininas e solubilização de fosfato (EMBRAPA, 2011). Solubilizam as formas insolúveis de fosfato, aumentando e disponibilizando P diretamente para as plantas (MARSCHNER, et al. 2011).

Portanto varias instituições de pesquisas buscam como forma de alternativa para obtenção de maior disponibilidade de N no solo o uso BPCP, podendo diminuir o custo de produção, devido ao alto preço dos fertilizantes (EMBRAPA, 2011)

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento inicial de milho safrinha, em função da aplicação de doses de inoculante a base de *A. brasilienses* no tratamento de sementes.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na fazenda experimental, pertencente as Faculdades Integradas de Ourinhos - FIO, na cidade de Ourinhos, SP, com altitude de 481 metros. Segundo Köppen o clima da região é classificado como CFA, com temperatura média de 21,2° C, com precipitação média anual de 1339 anuais.

O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado (DIC), constituídos por dez repetições. O experimento foi composto de 5 tratamentos, as doses do inoculante Nitro 1000 indicado para as culturas de Soja, Feijão e agora também para Milho e Trigo, foram:

- 1- testemunha
- 2- 100 mL/60000 sementes;
- 3- 150 mL/ 60000 semente
- 4- 50 mL/60000 sementes;
- 5- 70 mL/60000 sementes;

### Informações técnicas

Registro de Estabelecimento MAPA - EP PR 94581-1;

Registro Industrial CRBio: 00323-07D;

Natureza física: líquido ou turfoso;

*Azospirillum brasilense*, estirpes AbV5 e AbV6, vitaminas, sais minerais, fonte de carbono, água, espessante, conservante e estabilizante PVP (aquoso);

Embalagem de 15 doses de 100ml no Fluido.

O experimento foi instalado no dia 03 de Maio de 2016, plantado em vaso de 3 L, utilizou-se o material genético 30A37 considerado precoce, da empresa Morgan com alto potencial produtivo e sendo muito bem adaptado a região. O substrato utilizado foi constituído de solo na camada de 0-20 de profundidade, areia e torta de filtro, nas seguintes proporções, 2-2-1. O solo foi esterilizado em autoclave na Temperatura de 121° C por 15 Minutos.

As avaliações foram realizadas no dia 08 de junho de 2016, através dos seguintes parâmetros.

Diâmetro do Colmo;

Altura Parte Aérea (considerou da superfície do solo para cima) e Tamanho de Raiz (considerando superfície do solo para baixo);

Massa Verde (peso úmido), Parte Aérea e da Raiz;

Massa Seca (peso seca), Parte Aérea e da Raiz.

As avaliações foram feitas com 30 dias após a emergência. Para a retirada da planta do vaso utilizou-se água, facilitando a retirada da terra das raízes. A medição da planta foi realizada com régua. A secagem das plantas foi feita em estufa em laboratório 45° C por 72 horas. Os pesos das plantas foram obtidos através de uma balança digital de 2 casas decimais.

Os dados foram submetidos a análise de variância e foi aplicado o Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para a comparação das médias, pelo programa ASSISTAT Versão 7.7 beta (2016) desenvolvido por Francisco de A. S. e Silva - UFCG-Brasil - Atualizado. 01/03/2016.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao peso verde da raiz não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados, variando de 5,69 a 7,87 mg. Assim como para o tamanho de raiz, variando de 49,60 a 57,00 cm. Em relação a matéria seca raiz, também não houve diferença significativa entre os tratamentos, variando de 0.43 a 0,52 mg (Tabela 1).

Repke et al. (2013), avaliaram a aplicação de *A. brasilense* via solução nas sementes, acompanhada ou não de doses de nitrogênio sintético e também não observaram interferência no desenvolvimento de plantas, assim como na produtividade da cultura do milho, híbrido transgênico 2B587 Hx.

**Tabela 1.** Médias peso verde, tamanho e matéria seca de raiz em diferentes doses do inoculante. Ourinhos, 2016.

<b>Tratamentos</b>	<b>Peso Verde Raiz (mg)</b>	<b>Tamanho Raiz (cm)</b>	<b>Matéria Seca de Raiz (mg)</b>
1- Testemunha	5.69600 a	49.60000 a	0.49100 a
2- 100 ml	7.87100 a	54.60000 a	0.46200 a
3- 150 ml	5.80200 a	56.20000 a	0.43700 a
4- 50 ml	6.72300 a	57.00000 a	0.51000 a
5- 70 ml	5.72400 a	55.80000 a	0.52000 a
Teste F	2.9017 *	1.4289 ns	0.3714 ns
<b>CV%</b>	<b>27.57</b>	<b>14.27</b>	<b>36.80</b>

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns não significativo.

Para o peso verde aéreo da planta, observou-se diferença significativa, decorrentes da aplicação do inoculante com *A. brasilense* nas sementes de milho, sendo que a dose de 100 ml (recomendada) apresentou maior peso das plantas, enquanto que as demais doses apresentaram o menor peso. Provavelmente, o inoculante promoveu maior assimilação de N pela planta, aumentando a sua área foliar.

Para a Altura de parte aérea não houve diferença significativa entre os tratamentos testados, variando 47.75 a 54.10 cm. Para a Matéria Seca Aérea, também não houve diferença significativa entre os tratamentos testados, variando 0.77 a 1.05 mg (Tabela 2).

**Tabela 2.** Médias peso verde, tamanho e matéria seca Aérea em diferentes doses do inoculante. Ourinhos, 2016.

<i>Tratamentos</i>	<i>Peso Verde Aérea (mg)</i>	<i>Altura Parte Aérea (cm)</i>	<i>Matéria Seca Aérea (mg)</i>
1- Testemunha	9.36800 ab	52.20000 a	0.89600 a
2- 100 ml	11.71600 a	54.10000 a	1.05600 a
3- 150 ml	8.41500 b	47.75000 a	0.81300 a
4- 50 ml	9.77500 ab	50.70000 a	0.82600 a
5- 70 ml	8.32300 b	48.00000 a	0.77700 a
Teste F	3.3581 *	2.7463 *	2.3335 ns
CV%	24.93	10.28	26.24

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns não significativo.

Em relação ao Diâmetro do Colmo, não houve diferença significativa entre os tratamentos testados, variando de 5.80 a 6.43 mm (Tabela 3).

**Tabela 3.** Médias de diâmetro do colmo em diferentes doses do inoculante. Ourinhos, 2016.

<i>Tratamentos</i>	<i>Diâmetro do Colmo</i>
1- Testemunha	6.15300 a
2- 100 ml	6.43700 a
3- 150 ml	6.03000 a
4- 50 ml	6.33700 a
5- 70 ml	5.80600 a
Teste F	1.4347 ns
CV%	10.73

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns não significativo.

Os resultados em relação a utilização de *A. brasilienses*, são inconsistente em vários trabalhos, provavelmente devido a especificidade de interação deste microorganismo e a espécie vegetal utilizada, condições climáticas e nutricionais (SALA, et al. 2007). Portanto os estudos de performance das cultivares de milho em diversas condições tornam-se importantes para a recomendação e uso em escala comercial do produto.

### CONCLUSÃO

A aplicação de diferentes doses da bactéria diazotrófica, *Azospirillum brasilense*, via solução na semente influenciou somente para o peso verde da parte aérea da planta, na dose recomendada de 100 ml, proporcionando melhor resultado do que as demais doses utilizadas.

### REFERÊNCIAS

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. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**, 12º levantamento, set/2013 – Brasília .Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_09\\_10\\_10\\_50\\_55\\_boletim\\_graos\\_2013.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_09_10_10_50_55_boletim_graos_2013.pdf)>

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**, v. 9 Safra 2015/16 - Nono levantamento, Brasília, p. 1-174, junho 2016. Acesso em 01/07/16. Disponível em <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_06\\_09\\_16\\_49\\_15\\_boletim\\_graos\\_junho\\_2016\\_-\\_final.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_06_09_16_49_15_boletim_graos_junho_2016_-_final.pdf)>a

CONAB. **Acompanhamento. safra brasileira: grãos**, v. 8- Safra 2015/16 - Oitavo levantamento, Brasília, p. 1-178, maio 2016. Acesso em 01/07/16. Disponível em <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_06\\_10\\_14\\_42\\_08\\_boletim\\_graos\\_maio\\_2016\\_-\\_final.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_06_10_14_42_08_boletim_graos_maio_2016_-_final.pdf)>b

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Soja, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Documentos 325** ISSN 1516-781X Janeiro, 2011. Acesso em 10/05/16. Disponível em <[ttp://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/29676/1/Inoculacao-com-azospirillum.pdf](http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/29676/1/Inoculacao-com-azospirillum.pdf)>

Embrapa-Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Economia da Produção e Utilização do Milho**. Embrapa Milho e Sorgo Sistema de Produção,1. Acesso em 10/05/16. Disponível em <[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho\\_1\\_ed/economiadaprodu.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_1_ed/economiadaprodu.htm)>

Embrapa-Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo do Milho.** Embrapa Milho e Sorgo. Acesso em 01/07/16. Disponível em <[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho\\_6\\_ed/manejomilho.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/manejomilho.htm)>

MARSCHNER, P.; CROWLEY, D.; RENGEL, Z. Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the root axis e model and research methods. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, p. 883- 894, 2011.

MAGALHÃES. P. C. et al. **Fisiologia do milho.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. 23p. (Embrapa. Circular Técnica, 22).

REPKE, R. A; CRUZ, S. J. S; SILVA, C. J; FIGUEIREDO, P. G; BICUDO, S. J. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.12, n.3, p. 214-226, 2013. Acesso em 01/07/16. Disponível em <[http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/472/pdf\\_90](http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/472/pdf_90)>

FIESP-(Federação das Indústrias do Estado de São Paulo). **Safra Mundial de Milho 2016/17: 2º Levantamento do USDA.** Acesso em 28/07/16 . Disponível em <<http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/>>

SALA, V. M. R.; SILVEIRA, A. P. D. D.; CARDOSO, E. J. B. N. Bactérias diazotróficas associadas a plantas não-leguminosas. In: SILVEIRA, A. P. D. D.; FREITAS, S. D. S. (Ed.). **Microbiologia do solo e qualidade ambiental.** Campinas: Instituto Agrônomo. Bactérias diazotróficas associadas a plantas não-leguminosas, 2007. p. 97-115

SUBEDI, K. D.; MA, B. L. Assessment of some major yield-limiting factors on maize production in a humid temperate environment. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 110, n. 1, p. 21-26, 2009.

SILVA, F.C.; DA SILVA, M.M.; LIBARDI, P.L. Aplicação de nitrogênio no cultivo de milho, sob sistema plantio direto: efeitos na qualidade física do solo e características agronômicas. **Semina**, v. 34, n.6, p. 3513-3528, 2013.