

Nutrição e crescimento do milho por efeito do *Azospirillum spp* e doses de nitrogênio⁽¹⁾.

Vanessa Zironi Longhini⁽²⁾; Natália de Ávila Soares⁽²⁾; Wésley Carlos Rossini de Souza⁽³⁾; Nídia Raquel Costa⁽⁴⁾; Marcelo Andreotti⁽⁵⁾; Salatiér Buzetti⁽⁵⁾.

⁽¹⁾ Parte do trabalho de Iniciação Científica da primeira autora, financiada pela Fepisa.

⁽²⁾ Graduandas em Zootecnia–FE/Unesp, Campus de Ilha Solteira, São Paulo, Brasil, Bolsista da FAPESP. E-mail: ne_longhini@hotmail.com; ⁽³⁾ Mestrando em Agronomia (Sistemas de Produção) da FE/Unesp, Campus de Ilha Solteira, São Paulo, Brasil. ⁽⁴⁾ Doutoranda em Agronomia (Sistemas de Produção) da FE/Unesp, Campus de Ilha Solteira, São Paulo, Brasil. Bolsista da FAPESP. ⁽⁵⁾ Professores Adjunto I e Titular, respectivamente da FE/Unesp, Campus de Ilha Solteira, São Paulo, Brasil. Bolsistas CNPq.

RESUMO: Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) podem auxiliar por diversos mecanismos na nutrição nitrogenada das culturas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência agrônômica a campo do inoculante para milho (produzidos a partir das estirpes Ab-V5 e Ab-V6 da bactéria *Azospirillum brasiliense*) fornecido pela Empresa Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos LTDA (Simbiose Maiz), sobre o crescimento e nutrição do milho em cultivo irrigado no cerrado. O trabalho foi conduzido na FE/UNESP, no município de Selvíria-MS, num Latossolo Vermelho Distroférico textura argilosa. O milho foi semeado em novembro de 2011, sob irrigação por aspersão, em delineamento de blocos casualizados, com 7 tratamentos e 4 repetições. Foram avaliadas a produtividade de massa seca da parte aérea, o acúmulo de nutrientes e o índice de clorofila foliar (ICF) no florescimento pleno do milho; bem como análise foliar de N. A inoculação das sementes com *Azospirillum spp.* (Simbiose Maiz) na dose de 150 mL/50 kg de sementes, associada com 60 kg ha⁻¹ de N aplicados 30 % da dose na semeadura e 70% em cobertura no estádio V6, assemelhou-se ao uso de 120 kg ha⁻¹ de N nas mesmas condições, sobre a nutrição e crescimento do milho.

Termos de indexação: bactérias diazotróficas, inoculantes, *Zea mays*

INTRODUÇÃO

O milho é cultivado em grande parte do território brasileiro empregando-se diferentes sistemas de produção. Entretanto, normalmente sua eficiência de produção é baixa, considerando o potencial de material genético disponível comercialmente, tanto por motivos ambientais como de manejo da cultura.

Segundo Boddey e Döbereiner (1995), bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum*, fixadoras de N₂ atmosférico, quando em vida livre, associadas à rizosfera das plantas podem, possivelmente, contribuir com a nutrição nitrogenada dessas plantas. As bactérias diazotróficas mais estudadas

como BPCPs associativas, ou seja, que não formam uma simbiose com a planta hospedeira, são as bactérias pertencentes ao gênero *Azospirillum*.

Dados da Embrapa (2010) comprovam que a fixação biológica do N₂ atmosférico por bactérias diazotróficas em leguminosas trouxe inúmeras vantagens econômicas e ambientais para o Brasil. Entretanto, o uso comercial de bactérias fixadoras de N₂ para gramíneas está em fase inicial, com pesquisas com ainda inconsistentes para os variados sistemas de cultivo, principalmente para a cultura do milho em condições de cerrado de baixa altitude.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do inoculante para milho (produzidos a partir das estirpes Ab-V5 e Ab-V6 da bactéria *Azospirillum brasiliense*) fornecido pela Empresa Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos LTDA (Simbiose Maiz), sobre o crescimento e nutrição do milho em cultivo irrigado no cerrado.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FE/UNESP), no município de Selvíria-MS. O solo da área é um Latossolo Vermelho Distroférico textura argilosa, cultivado com culturas anuais e perenes em Sistema plantio direto a nove anos, sendo a cultura anterior milho. Portanto, com objetivo de caracterizá-lo inicialmente, isto é, antes da semeadura do milho foram efetuadas amostragens na profundidade de 0 a 0,20 m, o qual foi destinado à análise química para fins de fertilidade (Tabela 1).

Após amostragem do solo (20 subamostras na área), houve a contagem de microrganismos diazotróficos para determinação da população de bactérias em número de células por mL, realizada pela estimativa do Número Mais Provável (NMP) usando a tabela de MacCrady em meio semi-sólido NFB (*Azospirillum spp*) de acordo com metodologia descrita por Döbereiner et al. (1995).

O inoculante da empresa Simbiose (Simbiose

Maiz) e o inoculante padrão (Azototal) foram submetidos a testes laboratoriais de concentração (Unidades Formadoras de Colônias), pureza e caracterização. Todas as análises seguiram métodos oficiais, conforme Instrução Normativa nº30, de 12 de novembro de 2010 (MAPA).

Segundo a empresa Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos LTDA, o inoculante Simbiose Maiz apresenta as seguintes características: Garantia: 5×10^8 células viáveis/mL; Natureza física: Fluido; Densidade: 1,01g/mL; Dosagens testadas para 50kg de semente: 100mL, 150mL e 200mL; Lote: T002/2011; Fabricação: Mai/2011.

Conforme determina a Instrução Normativa 13 de 24 de março de 2011, o delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso com 4 repetições. A semeadura foi realizada manualmente, distribuindo-se 5 sementes por metro no sulco. Cada parcela experimental foi constituída de 8 linhas de 0,70 m de espaçamento com 6 m de comprimento e 4,9 de largura, totalizando 29,4 m². Anterior a semeadura do milho a área foi dessecada com herbicida glifosato na dose de 1440 mL do i.a. ha⁻¹.

A semeadura do milho (cultivar AG 8088 YG) foi efetuada em área irrigada (pivô central) em SPD em 18/11/2011. A adubação de semeadura com P₂O₅ e K₂O foi efetuada com a aplicação de 400 kg da fórmula 00-30-10. Momentos antes da semeadura, as sementes foram inoculadas com *Azospirillum* nas doses segundo as recomendações das empresas fornecedoras do produto. O efeito dos tratamentos (inoculantes e adubação nitrogenada) sobre a produtividade e a sua eficiência de utilização foi efetuada de acordo com os seguintes tratamentos:

1- Testemunha (T1) sem nitrogênio e sem *Azospirillum* spp.;

2- T2 dose de N recomendada para a cultura (120 kg ha⁻¹); 30 % da dose na semeadura e 70% em cobertura no estágio V6;

3- T3 com metade da dose de N recomendada para a cultura (60 kg ha⁻¹); 30 % da dose na semeadura e 70% em cobertura no estágio V6;

4- T4 com a metade da dose de N recomendada para a cultura (60 kg ha⁻¹), 30 % da dose na semeadura e 70% em cobertura no estágio V6, e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp, produto comercial devidamente registrado no MAPA (inoculante padrão- marca Azototal na dose de 100 mL/25 kg de sementes);

5- T5 com a metade da dose de N recomendada para a cultura (60 kg ha⁻¹), 30 % da dose na semeadura e 70% em cobertura no estágio V6, e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp.,

(Simbiose Maiz) na proporção de 100 mL/50 kg de sementes;

6- T6 com a metade da dose de N recomendada para a cultura (60 kg ha⁻¹), 30 % da dose na semeadura e 70% em cobertura no estágio V6, e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp., (Simbiose Maiz) na dose de 150 mL/50 kg de sementes;

7- T7 com a metade da dose de N recomendada para a cultura (60 kg ha⁻¹), 30 % da dose na semeadura e 70% em cobertura no estágio V6, e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. (Simbiose Maiz) na dose de 200 mL/50 kg de sementes.

Como fonte de N em cobertura foi utilizada a uréia, e logo após sua aplicação a área foi irrigada com uma lâmina d'água de 14 mm para minimizar os efeitos de volatilização da amônia.

Quando as plantas estavam no estágio de florescimento pleno do milho foram coletadas na área útil da parcela (2 linhas centrais desprezando-se 1 m em cada extremidade) 20 terços médios das folhas opostas imediatamente abaixo da espiga principal por parcela, secas a 65°C até massa constante, moídas e encaminhadas para análise da massa seca quanto aos teores de N. Também nesta mesma data foram coletadas as plantas em 1 m de linha/parcela para quantificar a produtividade de massa seca da parte aérea, e desta após secas a 65°C até massa constante foram moídas e encaminhadas para análise quanto aos teores de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn (Malavolta et al., 1997). No mesmo dia determinou-se as leituras ICF utilizando-se clorofilômetro digital (CFL 1030 - Falker). As leituras foram realizadas no terço médio das folhas da inserção da espiga principal, utilizando-se em média 10 folhas por parcela. De posse dos teores nutricionais na parte aérea do milho e da produtividade de massa seca, calculou-se o acúmulo de nutrientes nas plantas.

Os resultados médios atributos avaliados foram submetidos à análise de variância, posteriormente aplicando-se o teste de Duncan a 5% de probabilidade para comparação de médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao número mais provável (NMP) de bactérias diazotróficas endofíticas presentes no solo da área experimental, verificou-se valores de 9×10^8 NMP g⁻¹ de solo.

Na Tabela 2 verifica-se que não houve efeito significativo dos tratamentos para os teores de macro e micronutrientes no milho. Entretanto, cabe

destacar que a testemunha apresentou um valor bem inferior aos demais tratamentos para o teor de N na parte aérea. O bom desempenho nutricional do milho na área pode ser atribuído ao cultivo irrigado (sem limitação hídrica), com solo de razoável fertilidade (Tabela 1) e principalmente pelo histórico de 9 anos em SPD, onde a imobilização de N pode ter sido menor que a mineralização via M.O. (palhada).

Analisando-se a Tabela 3, em virtude do menor teor de N na parte aérea do milho, mesmo não significativo (Tabela 2), aliado à menor produtividade de matéria seca, a testemunha (T1) apresentou significativo menor acúmulo de N em relação ao tratamento T2, com a dose de N recomendada para a cultura (120 kg ha^{-1}); e este não diferiu dos demais, que por sua vez também não diferiram da testemunha. Quanto aos demais nutrientes avaliados, não houve diferença significativa dos tratamentos para o acúmulo na planta.

De modo geral, quanto ao teor de N foliar (Tabela 4), estes ficaram pouco abaixo da faixa considerada adequada por Malavolta et al. (1997). Exceção para o T6 e T7, com aplicação da metade da dose de N recomendada para a cultura (60 kg ha^{-1}), 30 % da dose na semeadura e 70% da dose em cobertura no estágio V6 e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp., nas doses de 150 e 200 mL/50 kg de sementes, respectivamente. Cabe destacar que pelo cultivo antecessor ter sido também de milho, a classe de reposta ao N em área corrigida quanto a fertilidade do solo e com histórico de 9 anos em SPD é de média para baixa, segundo Cantarella et al. (1996).

Ainda na Tabela 4, constatou-se que o índice de clorofila foliar (ICF) teve influência dos tratamentos, onde as maiores leituras foram proporcionadas pelos T2 e T7, significativamente superiores à testemunha T1. Com base neste parâmetro, a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum* spp., na dose de 200 mL/50 kg de sementes (T7) substituiu 60 kg ha^{-1} de N, uma vez que não houve diferença para o T2 com a dose de N recomendada para a cultura (120 kg ha^{-1}). Os demais tratamentos não diferiram quanto ao ICF em relação à testemunha T1.

Como foi destacado anteriormente, a testemunha T1, embora não significativa, apresentou menor produtividade de matéria seca da parte aérea em relação aos demais tratamentos (Tabela 4). Contudo, para a altura da planta, de inserção da espiga principal e diâmetro basal do colmo não houve variação pelos tratamentos. Novamente, este bom crescimento do milho na área pode ser atribuído ao cultivo irrigado (sem limitação hídrica), com solo de razoável fertilidade (Tabela 1) e principalmente pelo histórico de 9 anos em SPD,

onde a imobilização de N passa a ser menor que a mineralização via M.O.

A não significância no crescimento e produção de matéria seca do milho assemelham-se aos resultados obtidos por Sala et al. (2008), que em sua de revisão citaram trabalhos em que não houve efeito do *Azospirillum* em gramíneas no acúmulo de matéria seca e crescimento da parte aérea das plantas.

CONCLUSÕES

A inoculação das sementes de milho com Simbiose Maiz na dose de 150 mL/50 kg de sementes, associada com 60 kg ha^{-1} de N aplicados 30 % da dose na semeadura e 70% em cobertura no estágio V6, assemelha-se ao uso de 120 kg ha^{-1} de N nas mesmas condições sobre o índice de clorofila foliar, teores e acúmulo de nutrientes e produtividade de massa seca da parte aérea do milho.

REFERÊNCIAS

- BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent progress and perspectives for the future. *Fert. Res.*42, 241-250, 1995.
- CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van; CAMARGO C. E. O. Cereais. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. *Recomendação de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo*. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônomo; Fundação IAC, 1996. p. 45-72.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J. I. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas. Brasília, Embrapa-SPI; Itaguaí, RJ, Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia, 1995. 60p.
- EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Disponível em: <www21.sede.embrapa.br/a_embrapa/unidades_centrais/acs/publicações/institucional/Agroenergia.pdf> Acesso em: 04 abr. 2010.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2.ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319p.
- SALA, V. M. R.; CARDOSO, E. J. B. N.; FREITAS, J. G.; SILVEIRA, A. P. D. Novas bactérias diazotróficas endofíticas na cultura do trigo em interação com a adubação nitrogenada, no campo. *Rev. Bras. Ci. Solo*, 32: (3), 1099-1106, 2008.

Tabela 1. Caracterização inicial dos atributos químicos do solo na profundidade de 0-0,20 m. Selvíria, Mato Grosso do Sul, 2011.

Profundidade	P	MO	pH	K	Ca	Mg	H+Al	Al	SB	CTC	S-SO ₄	V
(m)	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	(CaCl ₂)				mmol _c dm ⁻³			mg dm ⁻³	%	
0-0,20	33	25	5,1	4,1	28	16	29	0	48,1	77,1	10	62

Tabela 2. Teores de nutrientes em plantas de milho AG 8088 YG, em função dos manejos de adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum* spp.. Selvíria – Mato Grosso do Sul, 2012.

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
Valor de F	2,11 ^{ns}	0,58 ^{ns}	1,47 ^{ns}	2,74 ^{ns}	0,54 ^{ns}	1,4 ^{ns}	0,4 ^{ns}	0,3 ^{ns}	0,3 ^{ns}	0,6 ^{ns}
			g kg ⁻¹			mg kg ⁻¹				
1	8,7	1,8	20,0	1,3	1,3	1,2	5	292	66	23
2	13,1	2,0	22,4	0,9	1,3	1,5	8	333	67	21
3	11,6	1,7	20,1	0,9	1,4	1,2	10	294	67	20
4	12,0	1,9	20,9	0,9	1,5	1,3	10	285	63	23
5	12,3	1,9	21,4	1,1	1,5	1,4	7	300	68	24
6	12,3	2,0	20,9	1,1	1,5	1,4	8	288	68	22
7	12,4	2,1	20,7	1,2	1,4	1,4	10	342	65	20
CV %	16,9	16,9	6,3	19,1	12,4	12,8	28,0	20,3	9,2	18,3

^{ns} não significativo pelo teste F.

Tabela 3. Acúmulo de nutrientes em plantas de milho AG 8088 YG, em função dos manejos de adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum* spp.. Selvíria – Mato Grosso do Sul, 2012.

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
Valor de F	2,3 ^{ns}	1,09 ^{ns}	1,7 ^{ns}	1,5 ^{ns}	1,6 ^{ns}	1,9 ^{ns}	0,4 ^{ns}	0,3 ^{ns}	1,0 ^{ns}	0,6 ^{ns}
			kg ha ⁻¹			g ha ⁻¹				
1	84 b [#]	17,5	193	12	13	12	51	2955	637	212
2	151 a	22,5	255	10	16	17	91	3979	775	235
3	124 ab	17,7	211	9	15	13	104	3102	706	214
4	1270 ab	20,0	220	10	15	14	82	2820	670	242
5	133 ab	21,0	228	12	16	15	72	3143	725	245
6	143 ab	22,7	246	13	18	17	92	3105	800	256
7	135 ab	22,5	227	13	15	15	110	3745	708	210
CV %	22,1	20,8	14,1	25,1	16,8	18,9	31,1	28,0	16,1	20,7

^{ns} e * respectivamente, não significativo e significativo a 5% pelo teste F. # Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Teor de N, Índice de clorofila foliar (ICF), produtividade de massa seca da parte aérea (MSPA), altura média de plantas (ALTP), de inserção da espiga principal (ALIEP) e diâmetro basal do colmo (DC) de plantas de milho AG 8088 YG, em função dos manejos de adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum* spp. Selvíria – Mato Grosso do Sul, 2012.

Tratamentos	N foliar	ICF	MSPA	ALTP	ALIEP	DC
Valor de F	0,32 ^{ns}	1,04 ^{ns}	1,16 ^{ns}	1,82 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,61 ^{ns}
		g kg ⁻¹	kg ha ⁻¹	cm	cm	mm
1	24,8	48,7 b	9560	211	109	22,2
2	24,8	60,9 a	11416	217	110	22,9
3	23,5	50,8 ab	10565	227	117	22,1
4	23,5	53,0 ab	10540	228	116	22,2
5	24,0	50,8 ab	10693	220	116	22,4
6	27,2	55,9 ab	11830	228	117	20,1
7	27,7	59,1 a	10946	225	116	23,9
CV %	23,6	16,6	12,4	4,3	6,1	13,5

^{ns} e * respectivamente, não significativo e significativo a 5% pelo teste F. # Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.