

AVALIAÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO (*Azospirillum brasilense*) EM MILHO DKB 290 PRO 3 (*Zea mays*)

Breno Victor Dumas de Almeida¹

Renato Ficagna¹

Mauro Junior Natalino da Costa²

RESUMO – A inoculação bacteriana é um processo de grande importância para a redução do uso de adubos nitrogenados e consequentemente atenuação do custo de produção em várias culturas. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes doses de inoculante via sementes da espécie *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. O experimento foi realizado em casa de vegetação, no Centro Universitário de Várzea Grande, UNIVAG, localizado no município de Várzea Grande, MT. O trabalho foi realizado entre 05 de outubro e 01 de dezembro de 2018. A unidade experimental foi constituída por vasos de cinco litros, com duas plantas por vaso. Utilizou-se o substrato com a proporção 3:1:1 (esterco, areia, terra). Foram implantados cinco tratamentos e cinco repetições, no delineamento em blocos casualizados. Os tratamentos foram Testemunha sem inoculante: Testemunha sem inoculante e com superfosfato-simples; tratamento com 80 ml de inoculante: tratamento com 100 ml de inoculante e tratamento com 200 ml de inoculante/ha. Analisou-se a altura da planta, diâmetro do colmo, comprimento e peso matéria seca da raiz.

Palavras-Chave: aproveitamento de nitrogênio, microbiologia, fisiologia vegetal.

EVALUATION OF BIOLOGICAL FIXATION OF NITROGEN (*Azospirillum brasilense*) IN MAIZE DKB 290 PRO 3 (*Zea mays*)

ABSTRACT – Bacterial inoculation is a process of great importance for reducing the use of nitrogenous fertilizers and consequently reducing the cost of production in several crops. The objective of the present work was to evaluate the effect of different doses of inoculant via seeds of the *Azospirillum brasilense* species on corn crop. The experiment was carried out in a greenhouse at the University Center of Várzea Grande, UNIVAG, located in the municipality of Várzea Grande, MT. The work was carried out between October 5 and December 1, 2018. The experimental unit consisted of five-liter pots with two plants per pot. The substrate was used in the ratio 3: 1: 1 (manure, sand, earth). Five treatments and five replications were implanted in the randomized complete block design. The treatments were Witness without inoculant: Witness without inoculant and with superphosphate-simple; treatment with 80 ml of inoculant: treatment with 100 ml of inoculant and treatment with 200 ml of inoculant / ha. Plant height, stem diameter, root length and dry matter weight were analyzed.

Keywords: nitrogen utilization, microbiology, plant physiology.

¹ Discentes do curso de Agronomia do UNIVAG – Centro Universitário. email: breno_victor07@hotmail.com; renatoficagna@hotmail.com;

² Docente do curso de Agronomia do UNIVAG – Centro Universitário. email: mauro.costa@univag.edu.br.

INTRODUÇÃO

Segundo a Embrapa (2016) na safra 2015/16 o milho obteve um destaque mundial, com relação às variações de estoque, o que acarretou uma valorização do produto nos mercados interno e externo. Em relação ao aumento do rendimento por área, a cultura vem conquistando espaço graças às novas tecnologias, como por exemplo os híbridos com genética superior. Conforme a Conab (2017) o total da área plantada com milho na primeira safra, no período 2016/17 alcançou 5.556 mil hectares, contra 5.356,6 mil na safra anterior. A produção chegou a um montante de 29.861,1 mil toneladas, representando um acréscimo de 16% em relação à safra passada. Esta produção exige cada vez mais a adoção de estratégias na propriedade e uma delas pode ser a utilização de inoculantes bacterianos.

A inoculação bacteriana é um processo de tratamento de sementes em que os microrganismos são adicionados artificialmente com fins de aumentar a taxa de utilização de nutrientes. A bactéria *Azospirillum brasilense* foi pesquisada pela Embrapa Soja de Londrina em parceria com a Universidade Federal do Paraná (UFPR). Ensaio conduzidos em cinco anos mostraram incrementos médios de 25% a 30% no rendimento do milho e de 8% a 11% no rendimento do trigo (EMBRAPA, 1999).

O processo da inoculação é realizado com a aplicação do produto nas sementes. Como se trata de um processo que envolve organismos vivos, é necessário priorizar temperaturas adequadas e evitar a exposição ao sol, também não se deve realizar a inoculação juntamente com a aplicação de agrotóxicos, entre outros procedimentos habituais a quem realiza inoculação no milho. A tecnologia pressupõe também a produção de vários hormônios que estimulam o crescimento das plantas, principalmente em seu sistema radicular. Assim, trata-se de um grupo de bactérias denominadas promotoras de crescimento vegetal (EMBRAPA, 2015).

O nitrogênio (N) é o principal nutriente na maioria das culturas, como no milho, que extrai cerca de 217 kg de N por ha. O N é fundamental para o desenvolvimento da planta, sem ele, não é suficiente a disponibilidade de todos os outros nutrientes e micronutrientes em quantidades suficientes, ou seja, não há expressão do potencial produtivo (REVISTA RURAL, 2009).

Segundo Quadros, et al. (2014), a inoculação com *Azospirillum* em milho aumenta o teor relativo de clorofila e o rendimento da matéria seca da parte aérea dos híbridos AS 1575 e SHS 5050, o peso de 1000 grãos do híbrido P32R48 e a estatura de planta do híbrido AS 1575. As bactérias inoculadas permanecem em uma quantidade satisfatória nas raízes até o final do ciclo,

demonstrando uma boa sobrevivência pós-inoculação. Para algumas características agronômicas, a resposta do milho à inoculação depende do híbrido testado.

De acordo com Fancelli & Dourado Neto (2008), a deficiência de N pode reduzir o rendimento de grãos de milho entre 14% e 80%. De uma forma geral, os solos não suprem adequadamente as quantidades requeridas de N para a cultura, e sendo assim há necessidade de uma adubação nitrogenada, tanto na semeadura como em cobertura. A deficiência provoca redução no crescimento foliar, clorose e amarelecimento. Seus sintomas inicialmente aparecem normalmente nas partes mais velhas da planta. Em excesso, provoca um crescimento acelerado na planta, dando origem a folhas de coloração verde-escura, diminuição de resistência a várias doenças e atraso na floração e ciclo de vida da cultura (AGROLINK, 2016).

O objetivo foi avaliar o efeito de doses de inoculante via semente da espécie *Azospirillum brasilense* na cultura do milho.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de 05 de outubro a 01 de dezembro de 2018 no Centro Universitário de Várzea Grande, UNIVAG, localizado no município de Várzea Grande - MT, latitude 15° 38' 48'' S, longitude 56° 07' 57'' W e altitude 198 m.

Foram utilizados 5 tratamentos, em blocos casualizados, com cinco repetições. Os tratamentos foram, Testemunha sem inoculante: Testemunha sem inoculante com adubação de superfosfato-simples, Tratamento com 80 ml de inoculante, Tratamento com 100 ml de inoculante e Tratamento com 200 ml/ha de inoculante. A cultivar de milho utilizada foi a DKB 290 PRO 3 com 98% de germinação e pureza. Os recipientes que foram utilizados para o plantio foram lavados com água e desinfetados com álcool 70% por dois minutos, lavados novamente e secados ao ar. Para o preparo do substrato foram utilizados 150 kg de terra vermelha e 20 kg de terra orgânica. Logo em seguida, houve a mistura dessas terras em uma lona, deixando-se na mesma por um período de 5 dias. Na adubação, foram utilizados calcário (1,125 kg), ureia (0,185 kg), cloreto de potássio (0,440 kg) e superfosfato simples (0,450 kg.ha⁻¹). O adubo superfosfato-simples foi misturado separadamente para apenas um tratamento Testemunha.

Para inoculação do milho, utilizou-se o inoculante líquido à base da bactéria *Azospirillum brasilense*, com o produto comercial AzzoFix®, apresentando uma concentração mínima de 2,0 x 10⁸ unidade formadora de colônia/mL. As sementes de milho vieram tratadas industrialmente com o produto Poncho (clotianidina). A inoculação foi realizada na forma líquida via semente, misturada manualmente, em sacos plásticos transparentes já higienizados. Utilizou-se uma

seringa de cinco mililitro e sacos plásticos contendo 500 sementes cada. Esta etapa foi realizada minutos antes do plantio.

As avaliações foram divididas em duas variáveis, a primeira sobre o desenvolvimento vegetativo (três avaliações, com um intervalo de 10 dias, sendo a primeira aos 10 dias após a emergência – **DAE**) e a segunda de produção de raízes (comprimento e massa seca). No desenvolvimento vegetativo, avaliou-se porte das plantas e diâmetro do colmo. Para a avaliação de porte das plantas, utilizou-se uma régua graduada de 30 cm, medindo desde a superfície do solo até a inserção (aurícula) da última folha formada (verdadeira). Para o diâmetro do colmo utilizou-se um paquímetro digital, a cerca de 10 cm do solo, em apenas um lado do colmo. Ao final, realizou-se o arranquio das plantas manualmente, e avaliados o comprimento e massa seca da raiz. Após a coleta do material vegetal, os mesmos foram levados para o laboratório e em seguida, colocados em uma estufa com circulação forçada de ar a 65 °C, permanecendo durante 3 dias até a finalização.

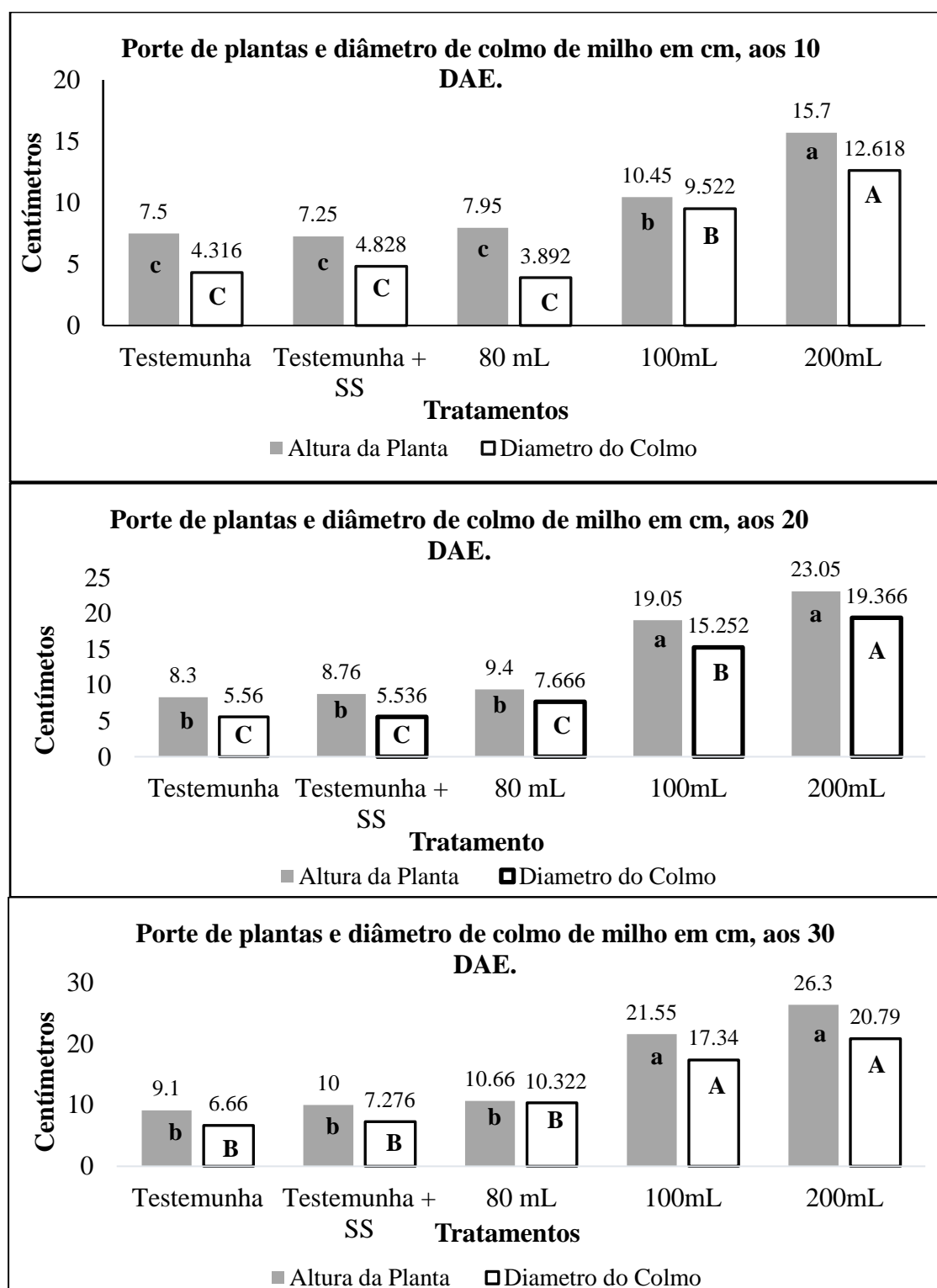
Todos os dados coletados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as médias, quando significativas, comparadas pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade de erro. A análise estatística foi realizada através do programa SASM-AGRI (CANTERI, et al, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto ao desenvolvimento do milho, nas três primeiras avaliações dos tratamentos realizados, mediu-se o porte de plantas e o diâmetro do colmo, como observado na Figura 1, aos, 10, 20 e 30 DAE.

Os resultados a seguir são da primeira avaliação. Com 10 DAE, sem o inoculante, a menor medida de altura observada foi para o tratamento Testemunha com superfosfato-simples 7,25 cm, já o diâmetro de colmo foi menor na Testemunha sem inoculante 4,316 cm. Quando foi feita a inoculação, o protocolo de doses mostrou um aumento crescente de altura de plantas e diâmetro de colmo, tanto que a maior dose obteve valores estatisticamente superiores (15,7 cm de altura e 12,618 de diâmetro de colmo). Os dados mostram que esta inoculação promove benefícios consideráveis e promissores para a cultura, pois houve respostas aos 10, 20 e 30 DAE. Muitos trabalhos apresentam, quando realizada a inoculação, ganhos em rendimento ou possibilidade da redução das dosagens de N aplicadas, sem haver perdas de produtividade (CAVALLET et al, 2000; HUNGRIA et al, 2016; CORASSA et al, 2013). Contudo, a fixação biológica consegue suprir apenas parte do N necessário (MUMBACH, et al, 2017).

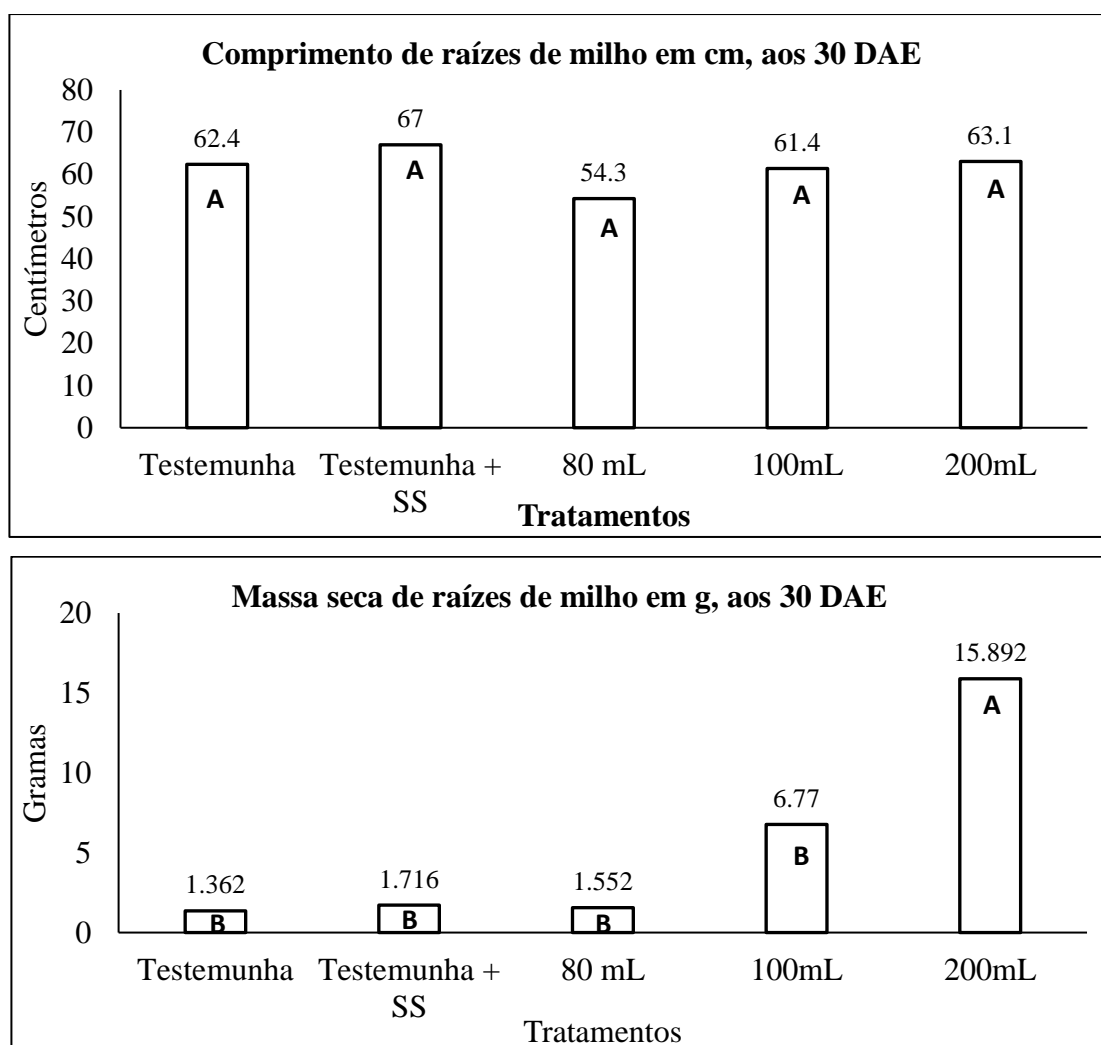
Figura 1 – Desenvolvimento de plantas de milho aos 10, 20 e 30 DAE com a utilização de *Azospirillum brasilense*. Várzea Grande, MT. 2018.



*Colunas seguidas da mesma letra, para cada variável (altura e diâmetro), não diferem entre si, pelo teste de Tukey (5%).

No comprimento das raízes e massa seca, os resultados para o tratamento Testemunha (T1) obteve 62,4 cm; seguido da Testemunha (T2) com 67 cm. Já no protocolo com aplicação do inoculante, o tratamento T3 (80 ml) apresentou média de comprimento de 54,3 cm, seguido do T4 (100 ml) com 61,4 cm e T5 com 63,1 cm (Figura 2). Não houveram diferenças estatísticas. Na massa seca, os resultados foram muito diferentes, onde o tratamento com a maior dose obteve resultados muito melhores (T1 -Testemunha = 1,362 g e T5 – 200 ml de inoculante = 15,892 g). Isto demonstra um ganho de **11,7 vezes** na massa radicular. Isto impacta em com benefícios fisiológicos e produtivos (MUMBACH, et al, 2017).

Figura 2 – Efeito da inoculação sobre o desenvolvimento de raízes de milho. Várzea Grande, MT. 2018.



*Colunas seguidas da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (5%).

CONCLUSÕES

Nas condições do ensaio pode-se concluir que a aplicação do inoculante *Azospirillum brasilense* no milho (DKB 290 PRO 3) promove um desenvolvimento significativo nas plantas. Não houve significância nos tratamentos que não receberam o inoculante, bem como naquele que recebeu dose abaixo da recomendada (80 ml). Os tratamentos que receberam a dose padrão (100 ml) e a dose superior (200 ml) obtiveram melhores respostas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. SASM - Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, p.18-24, 2001.

CAVALLET, L.; PESSOA, A.; HELMICH, J.; HELMICH, P. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. V. 4, p. 129-132, 2000.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acomp. safra bras. grãos, v. 4 Safra 2016/17 - Oitavo levantamento**. Brasília, 2017, 144 p.

CORASSA, G.M.; BERTOLLO, G.M.; GALLON, M.; BONA, S.D.; SANTI, A.L.; **Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada em trigo na região norte do Rio Grande do Sul**. Enciclopédia biosfera Centro Científico Conhecer, v. 9, p. 1298-1308, 2013.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Centro Nacional de Pesquisas de Solos**. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, 1999. 412 p.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Mercado de sementes de milho no Brasil: safra 2016/2017**. Sete Lagoas- MG, 2016. 31 p.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Bactérias aumentam produtividade do milho e reduzem adubos químicos**. Brasília, 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/web/portal/busca-de-noticias/-/noticia/2467608/bacterias-aumentamprodutividade-do-milho-e-reduzem-adubos-quimicos>. Acesso em: 15/10/2017.

FANCELLI, L.A.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. 2.ed. Piracicaba, SP: Livro cereas, 2008. 360p.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAÚJO, R.S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: na environment-friendly componente in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 221, p. 125-131, 2016.

MUMBACH, G.L.; KOTOWSKI, I.E.; SCHNEIDER, F.J.A.; MALMANN, M.S.; BONFADA, E.B.; PORTELLA, V.O.; KAISER, D.R. Resposta da inoculação com *Azospirillum brasilense* nas culturas de trigo e de milho safrinha. **Revista Scientia Agraria**. Versão On-line ISSN 1983-2443. Versão impressa ISSN 1519-1125. Vol. 18, no. 2, Curitiba, Abr/Jun, p. 97-103. 2017.

QUADROS, Patrícia Dörr, et al. **Desempenho agronômico a campo de híbridos de milho inoculados com Azospirillum**. 2013. Rev. Ceres, Viçosa, v. 61, n.2, p. 209-218, mar/abr, 2014.

AGROLINK. NUNES, José. **Nutrientes**. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/fertilizantes/nutrientes_361443.html. Acesso: 12/04/2017.

REVISTA RURAL. **Inoculante raiz mais forte**. Disponível em: http://www.revistarural.com.br/Edicoes/2009/Artigos/rev140_inoculante.htm. Acesso em: 15 de agosto de 2018.