

1 Cultura do milho: fixadores biológicos de nitrogênio e adubação nitrogenada em cobertura

2 Jessica Colpani⁽¹⁾, Alfredo Castamann⁽²⁾, Vanessa Kaufca⁽³⁾, Marcelo Rodrigo Colombo⁽⁴⁾.

3 ⁽¹⁾ Universidade Federal da Fronteira Sul, ERS 135, Erechim - RS, 99700-000, RS, Brasil. E-mail:
4 jeh.colpani@hotmail.com

5 Resumo – O milho (*Zea mays*) é um dos cereais mais cultivados a nível mundial. Para garantir elevada
6 produtividade, a cultura do milho demanda de grande quantidade de adubação, principalmente a nitrogenada. O
7 uso de adubação nitrogenada em grande quantidade onera os custos de produção, além de poluir lagos, rios e
8 lençóis freáticos devido a lixiviação. Para diminuir seu uso e otimizar a produção, alguns estudos apontam a
9 maximização do processo de Fixação Biológica do Nitrogenio (FBN). Dentre as bactérias fixadoras de
10 nitrogênio, destaca-se o gênero *Azospirillum* espécie *brasiliense* que é capaz de fixar o nitrogênio atmosférico
11 na forma de N₂ indisponível para as plantas e transforma-lo em NH₃ na qual é assimilável pelos vegetais. O
12 objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de doses crescentes de adubação nitrogenada sobre os componentes de
13 rendimento, produção de grãos e altura de inserção de espiga na cultura do milho, com presença e ausência de
14 inoculação de *Azospirillum brasiliense*. O experimento foi conduzido no município de Barra-Funda-RS, com
15 delineamento em blocos ao acaso com 3 repetições, totalizado 30 parcelas experimentais. O esquema fatorial
16 caracterizou-se por doses de nitrogênio x aplicação de inoculante. As doses utilizadas foram: 0, 50, 100, 150 e
17 200 kg ha⁻¹, na presença ou não de inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Utilizou-se *softwares* estatístico
18 SASM-Agri e SigmaPlot. Não observou-se interação dose de nitrogênio x aplicação de inoculante para nenhuma
19 das variáveis analisadas. Constatou-se efeito positivo linear de doses crescentes de adubação nitrogenada para as
20 variáveis NGE, MGE, PGP, PMW e AIE para a cultura do milho em ambas as situações, seja inoculado ou não.
21 A inoculação de *Azospirillum brasiliense* na cultura do milho apresentou efeito benéfico sobre as variáveis NGE
22 e MGE apenas, enquanto para PP, PMS e AIE não se observou efeito significativo dessa inoculação em nenhuma
23 das doses de adubação nitrogenada.

24 Termos para indexação: *Zea mays*, *Azospirillum*, produção de grãos.

25 **Corn crop: biological nitrogen fixers and nitrogen fertilization in the cover**

26 Abstract – Corn (*Zea mays*) is one of the world's most widely grown cereals. To ensure high productivity, corn
27 requires a large amount of fertilization, mainly nitrogen. The use of nitrogen in large quantities increases the cost
28 of production, in addition to polluting lakes, rivers and groundwater due to leaching. To reduce its use and
29 optimize production some studies point to the maximization of the FBN process. Among the nitrogen-fixing
30 bacteria, the genus *Azospirillum brasiliense* stands out, which is able to fix the atmospheric nitrogen in the form
31 of N₂ unavailable to the plants and transform it into NH₃ in which it is assimilable by the plants. The objective of
32 this work was to evaluate the effect of increasing doses of nitrogen fertilization on the components of yield, grain
33 yield and spike insertion height in corn crop with presence and absence of inoculation of *Azospirillum*
34 *brasiliense*. The experiment was conducted in the municipality of Barra-Funda with a randomized block design
35 with 3 replicates, totaling 30 experimental plots. The factorial scheme was characterized by nitrogen doses x
36 inoculant application. The doses used were 0, 50, 100, 150 and 200 kg ha⁻¹ in the presence or absence of
37 inoculation with *Azospirillum brasiliense*. Statistical software SASM-Agri and SigmaPlot were used. Nitrogen
38 Dose x Inoculant Application was observed for none of the analyzed variables. A positive linear effect of
39 increasing doses of nitrogen fertilization was observed for NGE, MGE, PGP, PMW and AIE for maize in both
40 situations, whether inoculated or not. The inoculation of *Azospirillum brasiliense* in maize showed a beneficial
41 effect on the NGE and MGE variables only, whereas for PP, PMS and AIE, no significant effect of this
42 inoculation was observed in any of the nitrogen fertilization doses.

43 Index terms: *Zea mays*, *Azospirillum*, grain production.

44 **Introdução**

45 O milho (*Zea mays* L.) pertence à família Poaceae, sendo o cereal mais produzido no
46 mundo (SOUZA; PIRES, 2013), cultivado na maioria dos países devido sua ampla utilização
47 como alimento para o consumo humano ou na composição de rações para animais, devido às

48 suas qualidades nutricionais, que é a presença de carboidratos, proteínas, lipídeos, vitaminas e
49 minerais como cálcio e o fósforo (BARBOSA, 2011).

50 A Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (FIESP, 2017) destaca os relatos
51 do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) de que a safra mundial
52 2016/2017 de milho chegou a 1.062 milhão de toneladas de grãos. O Brasil é o terceiro maior
53 produtor mundial, ficando atrás da China e EUA respectivamente. A Companhia Nacional de
54 Abastecimento (CONAB, 2017) relata aumentos significativos entre a safra de 2016 e 2017
55 em território brasileiro de 55,4 para 56,1 milhões de toneladas, devido ao uso do milho para a
56 produção de etanol.

57 Os altos rendimentos obtidos na agricultura, principalmente no cultivo de cereais
58 como o milho, demanda grandes quantidades de fertilizantes, principalmente os nitrogenados
59 (CAVALLET et al., 2000). O nitrogênio é considerado um dos maiores fatores de produção
60 por estar presente nas principais processos químicos que ocorrem nos vegetais, em que seus
61 compostos nitrogenados formam estruturas como aminoácidos, enzimas, vitaminas e
62 pigmentos que atuam no processo de absorção, fotossíntese e respiração, estimulando o
63 crescimento e o desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular (MALAVOLTA,
64 2006).

65 A adubação nitrogenada foi identificada como componente que mais consome energia
66 na produção de grãos (MA; DWYER, 1998). A maior parte do nitrogênio do solo encontra-se
67 em combinações orgânicas, não assimiláveis pelas plantas (MALAVOLTA, 2006).

68 Uma prática que vem sendo testada em inúmeras pesquisas com o objetivo de
69 melhorar a eficiência do uso de nitrogênio e a viabilidade econômica é o uso de bactérias
70 diazotróficas microaeróbias do gênero *Azospirillum*, fixadoras de nitrogênio atmosférico
71 (CAVALLET et al., 2000; NOVAKOWISKI et al., 2011). O processo de fixação biológica
72 transforma o N₂ em forma que pode ser absorvida pelas plantas, como é o caso do amônio

73 (NH₄⁺). Essa transformação ocorre por ação da enzima nitrogenase que ocorre em alta
74 atividade quando associadas a raízes de cereais (BODDEY; DOBEREINER, 1995).

75 Entre os países consumidores de nitrogênio o Brasil destaca-se por aplica-lo em baixos
76 níveis, isso ocorre devido aos altos preços (DOBEREINER et al., 1995). O conhecimento das
77 propriedades fisiológicas de *Azospirillum brasiliense* e seu desempenho na rizosfera das
78 plantas através de interações bem sucedidas poderá otimizar a aplicação de inoculantes
79 resultando em incrementos de produtividade (DARTORA et al., 2016) e economia de custos,
80 principalmente pela aquisição de adubação nitrogenada (MULLER, et al., 2016) que são
81 usados em grande escala na cultura do milho. Além de que a utilização deste nutriente pelas
82 plantas dificilmente ultrapassa de 50% por ocorrer perdas por lixiviação e escorrimento
83 superficial no solo, a qual ocasiona a poluição do ambiente através da contaminação de águas,
84 lagos e rios (HUNGRIA, 2011).

85 Dessa forma, objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de doses crescentes de adubação
86 nitrogenada sobre os componentes de rendimento, produção de grãos e altura de inserção de
87 espiga na cultura do milho, com presença e ausência de inoculação de *Azospirillum*
88 *brasiliense*.

89 **Material e Métodos**

90 A pesquisa foi desenvolvida em uma propriedade rural localizado no município de
91 Barra Funda, Estado do Rio Grande do Sul, no ano agrícola 2016/2017, com as coordenadas
92 geograficas: latitude 27°55'12' (Sul)' e Longitude 53°2'22'' (Oeste). O solo da propriedade
93 foi classificado como Neossolo litólico eutrófico fragmentário, manejado no sistema plantio
94 direto (SPD), mantido em pousio durante o inverno. O experimento foi conduzido de
95 dezembro de 2016 a maio de 2017.

96 Usou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso. O experimento apresentou
97 esquema fatorial duplo (dose de adubação nitrogenada x aplicação de inoculante). Os

98 tratamentos foram caracterizados pela variação na adubação nitrogenada parcelada em
99 cobertura: T1 – sem adubação nitrogenada; T2 – 50 kg ha⁻¹ (20 kg ha⁻¹ após semeadura e 30
100 kg ha⁻¹ em estágio V4-V6); T3 – 100 kg ha⁻¹ (20 kg ha⁻¹ após semeadura e 80 kg ha⁻¹ em
101 estágio V4-V6); T4 – 150 kg ha⁻¹ (20 kg ha⁻¹ após semeadura e 130 kg ha⁻¹ em estágio V4-
102 V6); T5 – 200 kg ha⁻¹ (20 kg ha⁻¹ após semeadura e 180 kg ha⁻¹ em estágio V4-V6). A fonte
103 da adubação nitrogenada foi na forma de ureia, correspondente a 45% de N. Os tratamentos
104 ainda foram submetidos à presença e ausência de inoculação do produto da Embrapa
105 *Azospirillum brasilense* estirpe abv5 abv6. A inoculação com a bactéria *Azospirillum* ocorreu
106 no mês de dezembro, realizada instantes antes da semeadura na dose recomendada pelo
107 fabricante, com auxílio de uma semeadora para plantio direto.

108 Cada parcela foi constituída de 5 linhas espaçadas em 45 cm com comprimento de 5
109 metros em 3 repetições, somando 30 parcelas em uma área de 240 m². O espaço entre parcelas
110 foi de 1 metro. As sementes de milho utilizadas foram do híbrido simples Agrocerec 9025. O
111 solo foi corrigido conforme a análise química do solo com aplicação de fertilizante da fórmula
112 00-19-14 (NPK). O controle de plantas indesejáveis foi realizado com a aplicação do
113 herbicida glifosato, para dessecção.

114 Aos 160 dias após a semeadura, foram avaliadas a altura de inserção da primeira
115 espiga (AIE) em 4 plantas por parcela e, posteriormente, realizada a média em cada parcela.
116 Essa mesma amostra foi debulhada e pesada para obtenção do número de grãos por espiga
117 (NGE) e massa de grãos por espiga (MGE). A colheita foi efetuada manualmente em cada
118 tratamento, constituído de 3 metros de linha das 3 linhas centrais, descartando-se 2 metros de
119 bordadura. Pesou-se essa amostra de grãos para obtenção do peso de grãos na parcela (PGP).
120 Avaliou-se também o peso de mil sementes (PMS).

121 Os dados obtidos foram submetidos á análise de variância (Teste F). Quando
122 observado efeito significativo, procedeu-se com análise de regressão para o efeito da dose

123 crescente de adubação nitrogenada e comparação de médias pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Para o
124 efeito da inoculação de *A. brasilense* foi verificado através da comparação de médias pelo
125 teste Tukey a 5%. A análise de variância foi realizada pelo programa estatístico SASM-Agri
126 v.8.2 (CANTERI et al., 2001) e a análise de regressão e confecção de gráficos foram
127 realizadas pelo *software* SigmaPlot 11.0.

128 **Resultados e Discussão**

129 Não observou-se interação dose de nitrogênio x aplicação de inoculante para nenhuma
130 das variáveis analisadas. Constatou-se efeito positivo linear de doses crescentes de adubação
131 nitrogenada para as variáveis NGE, MGE, PGP, PMS e AIE para a cultura do milho em
132 ambas situações, seja inoculado ou não (Figura 1). A inoculação de *Azospirillum brasilense*
133 na cultura do milho apresentou efeito benéfico sobre as variáveis NGE e MGE apenas,
134 enquanto para PP, PMS e AIE não se observou efeito significativo dessa inoculação em
135 nenhuma das doses de adubação nitrogenada (Tabela 1).

136 Salomone & Dobereiner (1996) também observaram aumento de peso de grãos com a
137 inoculação de sementes de milho com quatro estirpes de *Azospirillum*. Esses autores citam
138 ganhos na ordem de 1700 a 7300 kg ha⁻¹ as quais foram aferidos em diferentes genótipos de
139 milho e sorgo. É censo comum na comunidade científica os benefícios do nitrogênio na
140 cultura do milho e para gramíneas em geral. Nesse trabalho, foi possível observar ganhos na
141 produção de grãos com a aplicação de nitrogênio e salientar sua importância no sistema de
142 produção.

143 Muitos resultados distintos são encontrados na literatura sobre o efeito da inoculação
144 em plantas. Boddey & Dobereiner (1995) afirmaram que existe a possibilidade de que
145 espécies diferentes de plantas respondam distintamente ao processo de inoculação de
146 *Azospirillum*. Dessa forma, traduz o comportamento encontrado nesse estudo, onde a

147 inoculação de *Azospirillum brasilense* não demonstrou efeito significativo para a maioria das
148 variáveis observadas na cultura do milho.

149 **Conclusões**

150 A aplicação de doses crescentes de nitrogênio na cultura do milho não apresenta
151 interação significativa sobre presença de bactérias *Azospirillum brasilense*.

152 Doses crescentes de adubação nitrogenada em até 200 kg ha⁻¹ permitiram acréscimos
153 de produção na cultura do milho, principalmente por influenciar positivamente sobre
154 componentes de rendimento, como número de grãos por espiga, peso de mil sementes e massa
155 de grãos por espiga. Além do mais, a aplicação de nitrogênio no milho alonga a distância
156 entre a superfície do solo até a inserção da espiga.

157 A aplicação de *Azospirillum brasilense* permitiu aumentar o número de grãos por
158 espiga e a massa de grãos por espiga na cultura do milho.

159 **Referências**

160 BARBOSA, T. G. **Cultivares de milho a diferentes populações de plantas e épocas de**
161 **semeadura em Vitória da Conquista-BA.** [Dissertação de mestrado] – Universidade
162 Estadual do Sudoeste da Bahia, 2011. 73p.

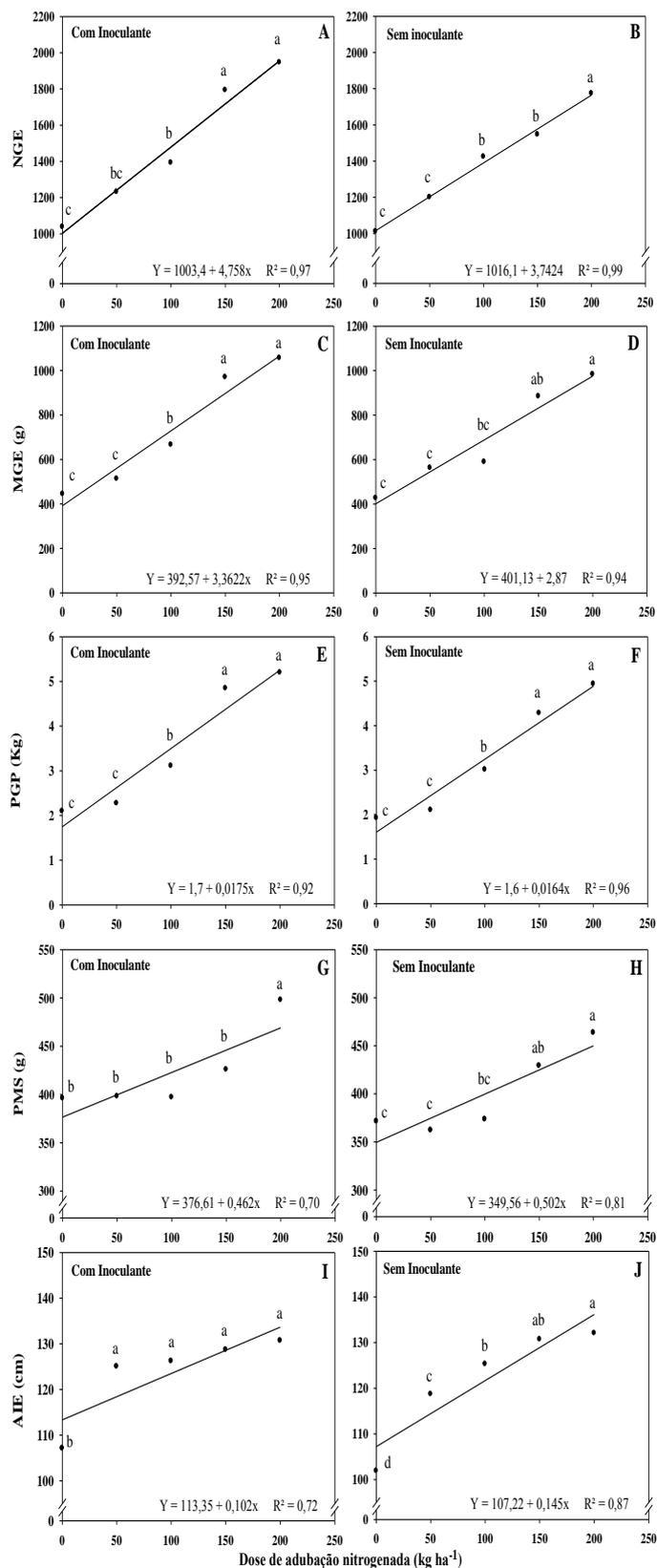
163 BODDEY, R. M.; DOBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals:
164 Recent progress and perspectives for the future. **Fertilizer Research**, v. 42, p.241-250, 1995.

165 CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY,
166 C. V. SASM-Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas
167 pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1,
168 n. 2, p. 18-24. 2001.

169 CAVALLET, L. E. et al. Produtividade de milho em resposta à aplicação de nitrogênio e
170 inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola**
171 **e Ambiental**, v. 4, n. 1, p. 129-132, 2000.

172 CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira**
173 **de grãos**, v. 4 - SAFRA 2016/17 - n. 9 - Nono levantamento junho 2017. Disponível em:

- 174 http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_06_08_09_02_48_boletim_graos_junho_2017.pdf. Acesso em 12 jun. 2017.
- 176 DARTORA, J. et al. Maize response to inoculation with strains of plants growth-promoting
177 bacteria. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 7, p. 606-611,
178 2016. DOI: 10.1590/1807-1929/agriambi.v20n7p606-611
- 179 DOBEREINER, J. et al. Alternatives for nitrogen nutrition of crops in tropical agriculture.
180 **Fertilizer Research**, v. 42, p. 339-346, 1995.
- 181 FIESP – Federação das Indústrias do Estado de São Paulo. **Safra mundial de milho 2017/18 –**
182 **2º Levantamento do USDA**. Informativo Deagro: Junho de 2017. Disponível em:
183 <http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/attachm>
184 [ent/boletim_milho_junho2017/](http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/attachm). Acesso em 12 jun. 2017.
- 185 HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo
186 custo. Embrapa Soja, Londrina, PR. ISSN 2176-2937, Documentos 325, 2011.
- 187 MA. B. L.; DWYER, L. M. Nitrogen uptake and use of two contrasting maize hybrids
188 differing in leaf senescence. **Plant and Soil**, v. 199, p. 283, 1998. DOI: 10.1023/A:
189 1004397219723
- 190 MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres,
191 2006. 638 p.
- 192 MULLER, T. M. et al. Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with
193 broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n.
194 2, p. 210-215, 2016. DOI: 10.1590/0103-8478cr20131283
- 195 NOVAKOWISKI, J. H. et al. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de
196 *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32,
197 suplemento 1, p. 1687-1698, 2011. DOI: 10.5433/1679-0359.2011v32Suplp1687
- 198 SALOMONE, G.; DOBEREINER, J. Maize genotypes effects on the response to
199 *Azospirillum* inoculation. **Biology Fertilizer Soils**, Oxford, v. 21, p. 193-196, 1996. DOI:
200 10.1007/BF00335934
- 201 SOUZA, A. W. A. de; PIRES, G. A. **Revisão de literatura: milho**. Rio Branco: [s.n.], 2013.
202 21 p.



203
 204 **Figura 1.** Efeito de doses crescentes de adubação nitrogenada sobre componentes de
 205 rendimento, produção de grãos e altura de plantas na cultura do milho. Mesma letra minúscula
 206 entre doses de nitrogênio não diferem entre si para o teste Tukey ($p < 0,05$). NGE: Número de
 207 grãos por espiga; MGE: Massa de Grãos por Espiga; PGP: Peso de Grãos na parcela; PMS:
 208 Peso de mil sementes; AIE: Altura de inserção da espiga.

209 **Tabela 1.** Efeito da aplicação de Inoculante *Azospirillum brasilense* sobre número de grãos
 210 espiga e massa de grãos por espiga na cultura do milho.

Dose (Kg ha ⁻¹)	NGE				MGE (g)			
	Com	Sem	t	CV (%)	Com	Sem	t	CV (%)
0	1036,84	1010,23	ns	16,35	433,30	425,50	ns	10,73
50	1230,00	1199,33	*	0,42	511,50	561,50	ns	13,17
100	1391,60	1423,67	ns	3,39	665,20	588,33	*	2,81
150	1792,33	1545,67	*	3,73	968,60	883,17	ns	18,44
200	1876,00	1779,00	ns	5,19	1055,30	982,30	ns	3,17

211 **Tabela 1.** Continuação.

PGP (kg)				PMS (g)				AIE (cm)			
Com	Sem	t	CV (%)	Com	Sem	t	CV (%)	Com	Sem	t	CV (%)
2,09	1,92	ns	8,71	396,00	371,20	ns	4,90	107,08	101,83	ns	2,16
2,27	2,10	ns	11,90	398,00	362,10	ns	5,23	125,00	118,67	ns	3,39
3,11	3,01	ns	7,84	396,83	373,33	ns	2,32	126,17	125,25	ns	0,91
4,84	4,28	ns	6,67	425,67	429,00	ns	9,27	128,67	130,67	ns	3,14
5,19	4,93	ns	8,03	497,77	463,33	ns	3,11	130,67	132,00	ns	1,58

212 Com: Com inoculante; Sem: Sem inoculante; t: teste Tukey (p<0,05); CV: coeficiente de variação; *efeito
 213 significativo da inoculação; ns: efeito não significativo da inoculação; NGE: Número de grãos por espiga; MGE:
 214 Massa de Grãos por Espiga; PGP: Peso de Grãos parcela; PMS: Peso de mil sementes; AIE: Altura de inserção da
 215 espiga.