

CENTRO UNIVERSITARIO DO CERRADO
PATROCÍNIO
Graduação em Agronomia

**INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* NO TRATAMENTO DE
SEMENTES EM MILHO CULTIVADO EM VASOS**

Bruno Aparecido Silva

PATROCÍNIO
2017

BRUNO APARECIDO SILVA

**INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* NO TRATAMENTO DE
SEMENTES EM MILHO CULTIVADO EM VASOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como exigência parcial para obtenção do grau de Bacharelado em Agronomia, pelo Centro Universitário do Cerrado Patrocínio.

Orientador: Prof. D.Sc. Cláudio Barbosa de Alcântara.

**PATROCÍNIO
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA

630 Silva, Bruno Aparecido
S578i Inoculação de *Azospirillum Brasilense* no tratamento de sementes em milho cultivado em vasos / Bruno Aparecido Silva. - Patrocínio: Centro Universitário do Cerrado Patrocínio, 2017.

Trabalho de conclusão de curso – Centro Universitário do Cerrado – Patrocínio – Faculdade de Agronomia.

Orientador: Prof. D. Sc. Clauber Barbosa de Alcântara

1. Inoculação. 2. Fixação biológica. 3. *Zea mays*.



Centro Universitário do Cerrado Patrocínio
Curso de Graduação em Agronomia

Trabalho de conclusão de curso intitulado “*Inoculação de Azospirillum brasilense no tratamento de sementes em milho cultivado em vasos*” de autoria do graduando Bruno Aparecido Silva, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof. D.Sc Clauber Barbosa de Alcântara - Orientador

Instituição: UNICERP

Prof. M Sc. Guilherme dos Reis Vasconcelos

Instituição: UNICERP

Prof. D Sc. Donizetti Tomaz Rodrigues

Instituição: UNICERP

Data de aprovação: 08/12/2017

Patrocínio, 08 de dezembro de 2017

***DEDICO** esta pesquisa a meus pais Arédes Alves da Silva e Sandra Abadia da Silva, que foram a razão de tudo pelo qual tenho lutado.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

A meu pai Arédes e minha mãe Sandra, por todo amor, carinho, dedicação e esforço;

A minha irmã Patrícia, meu cunhado Luiz e meu sobrinho Gustavo, por sempre estarem do meu lado, me dando alegria nos momentos bons e força nos momentos tristes. E pela ajuda, sempre que necessário para minha graduação;

A minha namorada Daniela pelo amor, carinho, compreensão e paciência que teve comigo, nesses momentos da realização do projeto;

Ao meu grande amigo Ulysses Sanchez de Souza pela ajuda, bom humor, paciência e orientações em diversos momentos;

Aos meus amigos e colegas de classe: André, Alexandre, Bruno Batista, José Vitor, Leonardo e os demais por terem convivido durante estes 5 anos de curso;

Agradeço a minha colega Amanda Roriz por ter me ajudado com o trabalho no meu momento de fraqueza;

Ao Professor José das Cruz, que me ajudou a todo o momento neste e nos demais trabalhos, realizados durante o curso;

As empresas Cultura e Macroquímica, pela colaboração na resolução deste experimento;

Ao Prof. Dr. Cláudio Barbosa de Alcântara por ter sido meu orientador e ter me dado suporte em todos os momentos desta pesquisa. Agradeço também aos demais professores do UNICERP por terem me dado conhecimento durante a graduação;

Aos Professores. Dr.Donizetti Tomas Rodrigues Dr Aquiles Junior da Cunha, pela ajuda na realização deste projeto;

A instituição e a todos os funcionários do UNICERP, por terem me auxiliado quando necessário durante todo desenvolvimento deste trabalho. Enfim, a todos que direta ou indiretamente participaram deste projeto;

A Fazenda Congonhas e seus colaboradores, pelo apoio, conhecimento e paciência nos estágios;

A Fazenda Cachoeira e seus colaboradores, pelo apoio, conhecimento, paciência e amizade.

“ E o mundo pode até fazer você chorar, mas Deus te quer sorrindo ”.

Noites Traiçoeiras - Carlos Papae..

RESUMO

Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor de milho e segundo como exportador, a estimativa da safra de 2016/2017 foi 97 milhões toneladas de milho. A importância do milho se dá pelas diversas formas de utilização do grão na alimentação humana e animal, ou como matéria prima nas indústrias. Com origem no México, a espiga mais antiga data por volta de 7 anos a. C., que com o passar dos tempos, o homem domesticou e foi melhorando através de seleções feitas pelo mesmo, a partir do teonsite, um ancestral do milho natural das Américas. O milho ficou conhecido, depois da expedição feita por Cristóvão Colombo em 1492, que levou grãos para Europa, e por onde disseminou pelo mundo. No Brasil já havia o cultivo de milho, mais depois da chegada dos portugueses o cultivo e o consumo aumentou. A importância desse cereal, se dá pelas diversas formas utilizadas. O nitrogênio é um nutriente essencial de produção e com a demanda do cereal aumentou-se a demanda de adubos, e com os altos preços dos adubos nitrogenados, para tentarem reduzi-los novas tecnologias foram introduzidas no campo. Embora o ar atmosférico possua 78% de nitrogênio gasoso, nenhuma planta ou animal, consegue sintetizar e utilizar como nutriente, porém existem algumas bactérias denominadas diazotróficas que conseguem fixar, graças a uma enzima chamada de nitrogenase, que reduz o nitrogênio gasoso em amônia ou amônio. Depois que uma pesquisadora da Embrapa ficou mundialmente conhecida por descobrir a capacidade de fixação biológica de bactérias com as gramíneas, as bactérias gênero *Azospirillum* abrange um grupo de bactérias que promovem crescimento e de fixam nitrogênio, e que é encontrado em todo o mundo. Além do nitrogênio outros componentes, são atribuídos para o efeito da mesma. Mesmo ter passados anos essa tecnologia é ainda considerada nova. O inoculante utilizado nas gramíneas *Azospirillum*, diferente do utilizado nas leguminosas, não fornece totalmente o nitrogênio, para isso se torna necessário a utilização de adubos químicos nitrogenados.

Palavras chave: fixação biológica; suplemento de nitrogênio; *Zea mays*.

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1. Resultados da análise de solo da fazenda experimental - Patrocínio, 2016.....	20
Tabela 2. Tabela 2. Tratamentos experimentais da inoculação <i>A. brasilense</i> em sementes de milho cultivado em vasos.....	20
Gráfico 1. Resultados das doses da inoculação <i>A. brasilense</i> sobre a altura (cm), em milho cultivada em vasos.....	22
Gráfico 2. Resultados das doses da inoculação <i>A. brasilense</i> sobre massa seca de raiz (g), em milho cultivado em vasos.....	23
Gráfico 3. Resultados das doses da inoculação <i>A. brasilense</i> sobre massa verde de raiz (g), em milho cultivado em vasos.....	24
Gráfico 4. Resultados das doses da inoculação <i>A. brasilense</i> sobre massa seca de parte aérea (g), em milho cultivado em vasos.....	24
Gráfico 5. Resultados das doses da inoculação <i>A. brasilense</i> sobre Massa verde da parte aérea (g), em milho cultivado em vasos.....	25
Gráfico 6. Resultados das doses da inoculação <i>A. brasilense</i> sobre Teor de nitrogênio (g kg^{-1}), em milho cultivado em vasos.....	25

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	11
1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
CAPÍTULO 2 - RESPOSTA DA INOCULAÇÃO COM <i>Azospirillum Brasiliense</i> NO MILHO SAFRINHA	16
RESUMO	16
ABSTRACT	17
1 INTRODUÇÃO	18
2 MATERIAL E MÉTODOS	19
3 RESULTADO E DISCUSSÃO	22
4 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS	28
CAPÍTULO 3	30
CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
REFERÊNCIAS	31

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Para Cruz (2008), o milho (*Zea mays*) é uma planta da família das Poacea, sendo a única do gênero *Zea* cultivada. O nome milho significa “sustento da vida”, nome dado de origem indígena caribenha. Com origem no Sul do México e norte da Guatemala, o milho foi uma forma importante na alimentação das civilizações ao longo dos séculos, como os incas, maias e astecas, que glorificavam o cereal tanto na arte, como na religião.

A espiga mais antiga foi encontrada na data de 7000 a. C., no vale do Tehucan, atualmente, onde se localiza o México. Com o passar do tempo, o homem domesticou a cultura que foi se melhorando cada vez mais através das seleções visuais, destacando as características principais como a produtividade, capacidade de adaptação, resistência a pragas e doenças, entre outras originando até as variedades encontradas hoje (CADORE, 2014).

Segundo Fonasieri Filho (2007), o milho é uma planta que não consegue sobreviver na natureza, sem os cuidados do homem. Completamente domesticada, o milho não consegue crescer em forma selvagem, sendo inteiramente dependente. A domesticação ocorreu a partir de uma pequena planta, conhecida como teonsite, descendente com várias espigas sem sabugo, encontrada até hoje nas lavouras da América central. Foi o primitivo habitante da América que através da seleção desenvolveu e se tornou um dos alimentos mais importantes da história. Essa é a hipótese mais aceita e atual da origem do milho.

Praticamente desconhecido da Europa, o milho foi encontrado em cultivo em 1492 pela expedição de Cristóvão Colombo. Quando membros da expedição retornaram com um grão, para Espanha, levando sementes para serem cultivados na Bacia do Mediterrâneo, aonde se espalhou amplamente pelas regiões (FORNASIERI FILHO 2007).

No Brasil, antes do descobrimento os índios guaranis já cultivavam o cereal como principal alimento. Com a chegada dos portugueses, aumentou-se o cultivo, o consumo e os novos produtos a base do milho, que com o tempo foram incorporados em nossa culinária.

O milho pertence na classificação botânica o reino *Plantae*, de divisão *Magnoliophyta*, da classe *Liliopsida*, de ordem das Poales, de família *Poaceae* Subfamília *Panicoideae*, do gênero *Zea* e espécie *Zea mays*.

Segundo Barros e Calado (2011), sua semente é classificada como cariopse, constituída de três partes: o pericarpo, endosperma, e embrião. A parte externa é o pericarpo, é uma camada fina e resistente da semente. O endosperma é a parte nutritiva, sendo constituída por carboidratos aonde apresentando maior volume, aonde esta envolvida pelo pericarpo. O embrião é a própria planta em miniatura, ou seja, que possui todos os órgãos desenvolvidos. Após a emergência da radícula, a raiz primaria vai se originando e se aprofundando em sentido vertical no solo. Em seguida, as raízes secundarias surgem, apresentando grande capacidade de se ramificar e a raiz primaria se desintegra. Posteriormente, novas raízes surgem a partir dos primeiros nós do colmo, chamada de raízes adventícias. Elas se ramificam intensamente, sendo importante na sustentação da planta. Possui somente um caule ereto, compactado do tipo colmo. Apresentando nós e entrenós o qual é rico em açúcar (além de ter função de estrutura, ele também é um órgão de reserva). Suas folhas são longas e estreitas de forma lanceolada (aspecto de uma lança) , dispostas alternadas no colmo e inserida no nó. Possui um limbo de cor verde escuro com uma pilosidade verde clara, com nervura central. O milho é uma planta monóica que apresenta os órgãos masculinos e órgãos femininos em distintas inflorescências, em que a polinização é feita pelos principalmente pelos ventos. A inflorescência masculina é do tipo panícula, situada na extremidade superior do colmo. E a inflorescência feminina sai das axilas das folhas podendo ter de uma a três espigas por planta.

O milho é um dos principais cereais cultivados e consumidos no mundo. A produção mundial esta estimativa de 1, 03 milhões de toneladas para safra 2017/2018, sendo os Estados Unidos referência em produção e exportação, logo atrás da produção vem China e Brasil, e exportação, Brasil e Argentina. (KOWALSKI, 2017)

A importância do cereal se dá pelas várias formas de utilização, devido ao seu potencial produtivo e o seu valor nutritivo, podendo ser usado na alimentação humana e a de animais, até mesmo na indústria de alta tecnologia. A maior parte da produção segundo Duarte et al (2010), é utilizada pelas indústrias nas fabricações de rações, isso representa cerca de 70% no mundo e entre 70 e 80% no Brasil. A utilização da cultura do milho como rotação de cultura, também tem um papel importante na viabilidade e sustentabilidade de outras culturas, podendo minimizar as possíveis pragas de solo como nematoides e doenças, como o mofo branco e entre outras.

Segundo o décimo segundo boletim de acompanhamento de safra brasileira, a CONAB (2017), estimativa da produtividade média do país na safra 2016/2017 foi acima de 5.500 Kg/há, chegando a mais 97 mil toneladas de milho. Ficando atrás apenas da soja, o milho é o segundo maior cultivo do país, liderando o ranking brasileiro os estados do Mato Grosso em primeiro, o estado do Paraná em segundo e em terceiro o Rio Grande do Sul.

A cultura do milho é muito exigente quanto à fertilidade do solo. Com o aumento da produtividade do milho também se aumentou a demanda por adubação, sendo indispensável à adubação nitrogenada. Conforme foi provado por Melgar et al. (1991), o nitrogênio é um nutriente apresenta um dos maiores efeitos na produção de milho. Segundo Taz e Zeiger (2009), o nitrogênio faz parte essenciais dos componentes da célula das plantas, e está relacionada com importantes processos fisiológicos, como respiração, fotossíntese, atividades de raízes, absorção iônica dos nutrientes, desenvolvimento, crescimento, diferenciação celular e genética. Para Coelho et al(2010) a falta desse nutriente pode ser caracterizada pelo amarelamento das folhas velhas em forma de “V”, da ponta para a nervura central, seguindo por uma necrose e uma abscisão e podendo haver colmos.

Conforme Hungria (2011), mesmo o ar atmosférico possuindo 78 % de nitrogênio molecular (N_2), nenhuma planta ou animal consegue utiliza-lo como nutriente, isso devido à tripla ligação que existe nos dois átomos do N_2 . A utilização de adubos químicos nas propriedades é realizada através de processos industrial de fixação N_2 , do qual o adubo nitrogenado tem se um alto custo econômicos por importar cerca de 73% de nitrogênio utilizado na agricultura, e também ambientais, pelo fato de usar adubos sintéticos. Diante disso, surgiu a necessidade de utilizar novas alternativas que proporcionam a fixação de nitrogênio diminuindo os custos, usando menores quantidades de adubos químicos e diminuindo os impactos ambientais. Dentre essas alternativas destacam-se as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), que são bactérias que correspondem a um grupo de microrganismos benéficos, quando em associação a culturas de importância econômica se torna relevante para a agricultura.

Quando elas se associam ao sistema radicular, as bactérias podem promover aumento na produção de cereais e nas gramíneas forrageiras, como foi visto por Okko (1985) apud Moraes (2012). Segundo Hungria (2011), as BPCV beneficiam o crescimento das plantas por haver combinação de vários componentes, sendo as mais relevantes como a capacidade de fixação biológica de nitrogênio, atuarem como controle biológico, solubilizar o fosfato e aumentar a atividade da redutase do nitrato quando nas plantas crescem endofiticamente. O gênero

Azospirillum abrange um grupo de BPCV de vida livre, encontrado em quase todo o mundo. Outros benefícios já foram atribuídos à aplicação de Azospirillum em vários efeitos. A maior tolerância a estresses como salinidade e seca a ataques de patógenos, absorção de água e minerais, além de ter trabalhos confirmados de fito hormônios citocininas e giberelinas e principalmente auxina Tien et al. (1979) apud Morais (2012). Com isso, as plantas apresentam um crescimento mais rápido e com bom enraizamento.

Depois da fotossíntese, a fixação biológica do nitrogênio é o processo mais importante para nutrição das plantas. O processo é realizado por microrganismos que possuem a enzima nitrogenase funcional, capaz de converter o nitrogênio gasoso em amônia ou amônio. As duas formas podem ser utilizadas e absorvidas pelas plantas. (SANTOS, 2017). Outra forma de disponibilidade de N é a decomposição ou amonificação de matéria orgânica, que fornece amônia para o solo, feita por bactérias e alguns fungos não simbióticos. (GIRACCA E. NUNES, 2017)

Segundo Morais (2012) na década de 70, a bactéria do gênero Azospirillum ganhou grande destaque mundialmente, com a descoberta de uma pesquisadora da Embrapa, Dra. Johana Döbereiner, da capacidade de fixação biológica de nitrogênio associada com as gramíneas. A expectativa era que a admissão dessa tecnologia, poderia reduzir usos de fertilizantes nitrogenados e aumentar a produção, isso devido pela fixação de N às culturas. Depois de ter passados vários anos, o acolhimento voluntário dessa tecnologia na agricultura ainda é considerada nova. A principal dificuldade da admissão da Azospirillum na cultura é o fato de ocorrer coisas inesperadas, aleatórias e também, a falta de confiabilidade dos resultados obtidos das pesquisas, que podem variar conforme o genótipo, a metodologia de condução do experimento e as condições edafoclimáticas (fatores abióticos).

Na cultura da soja podemos ver que o inoculante é capaz de fornecer todo N necessário para a cultura, que no caso das gramíneas o inoculante do gênero Azospirillum não fornece para a cultura todo N necessário. Assim fica necessário a adubação nitrogenada para a cultura do milho, entrando como suplemento o inoculante (ARAÚJO, 2017).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Objetivo geral deste trabalho foi avaliar a interação a adubação nitrogenada e a inoculação com *Azospirillum brasilense* sobre o desenvolvimento inicial de plântulas de milho.

2.2 Objetivos específicos

O objetivo específico deste trabalho foi avaliar e comparar os tratamentos com diferentes dosagens de *Azospirillum brasilense*, sobre as seguintes variáveis:

- Altura da planta (cm);
- Peso de massa verde (g);
- Peso de massa seca (g);
- Quantidade de N na folha (g kg^{-1}).

CAPÍTULO 2 RESPOSTA DA INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* NO MILHO SAFRINHA

RESUMO

O milho é um dos principais cereais cultivados no país, sua importância se dá pelas diversas formas de utilização do grão. O Nitrogênio é um nutriente fundamental na produção da cultura, porém, solos brasileiros apresentam baixa disponibilidade. Para tentar reduzir a utilização de adubos nitrogenados por apresentarem alto valor comercial, incorporou-se bactérias fixadoras de nitrogênio que disponibilizam de forma aproveitável pela planta. O objetivo deste trabalho foi avaliar as diferentes doses do inoculante a base da bactéria *Azospirillum brasilense* nos estádios iniciais do milho. O trabalho foi realizado na casa de vegetal, da faculdade de agronomia, em Patrocínio. O solo utilizado foi um latossolo vermelho-amarelo com histórico de cultivo de milho e soja. O trabalho foi realizado em blocos casualizados com 4 tratamentos e 6 repetições, T1= 0 ml ha⁻¹ de *A. brasilense*, T2=100 ml ha⁻¹ de *A. brasilense*, T3=200 ml ha⁻¹ de *A. brasilense*, T4=300 ml ha⁻¹ de *A. brasilense*. No trabalho a maior dosagem com a bactéria se mostrou eficiente para as variáveis de altura e massa seca de raiz, sendo insignificante seu efeito para as demais. Embora houver muitos trabalhos que relatam benefícios da inoculação da bactéria, este trabalho não apresentou o mesmo resultado com aumento significativo linear para todas as variáveis analisadas. A literatura relata que aplicação de formas de nitrogênio como amônia e nitrato, inibi atividade das enzimas nitrogenase, e também a utilização de solo não esterilizado em casa de vegetação, também pode afetar a colonização entre planta e bactéria de interesses agronômicos, aumentando assim a competição de microrganismos. Ausência de resposta à inoculação também é encontrada na literatura. Concluir se que a inoculação com a bactéria *A. brasilense* de maneira geral não proporcionou incrementos no desenvolvimento inicial do milho, influenciando positivamente apenas a massa seca de raiz e na altura de plantas.

Palavras chave: Bactérias diazotróficas. Desenvolvimento inicial. *Zea mays*.

ABSTRACT

RESPONSE OF INOCULATION WITH *Azospirillum brasilense* ON CORN SAFRINHA

The corn is one of the main cereals cultivated in the country, its importance is given by several ways of using the grain. Nitrogen is a fundamental nutrient in the production of culture, however, Brazilian soils present low availability. Trying to reduce the use of nitrogen fertilizers for of their high commercial value, incorporated nitrogen-fixing bacteria were incorporated into the plant in usable way used for the plant. The objective of this work was to evaluate the different doses of the inoculant based on the bacterium *Azospirillum brasilense* in the initial stages of corn. The work was done in the House of Vegetable, from the faculty of agronomy, in Patrocínio. The soil used was a red-yellow latosol with a history of corn and soybean cultivation. The study was performed in a randomly block with 4 treatments and 6 replicates: T1 = 0 ml ha⁻¹ of *A. brasilense*, T2 = 100 ml ha⁻¹ of *A. brasilense*, T3 = 200 ml ha⁻¹ of *A. brasilense*, T4 = 300 ml ha⁻¹ of *A. brasilense*. In the work the greater dosage with the bacterium proved efficient for the variables of height and dry mass of root, being insignificant its effect for the others. Although there were many studies reporting benefits of bacterial inoculation, this work did not present the same result with significant linear increase for all variables analyzed. The literature reports that the application of nitrogen forms such as ammonia and nitrate, inhibits the activity of nitrogenase enzymes, and also the use of unsterilized soil in a greenhouse, can also affect the colonization between plant and bacteria of agronomic interests, thus increasing competition of microorganisms. Default, of response to inoculation is also found in the literature. It was concluded that the inoculation with the bacterium *A. brasilense* in general did not provide increases in the initial development of corn, positively influencing root dry mass and plant height.

Keywords: Diazotrophic bacteria. Initial development. *Zea mays*.

1 INTRODUÇÃO

Para Fornieri Filho (2007), o milho (*Zea mays*) é um dos principais cereais cultivados no país, havendo uma perspectiva global de aumento na demanda e no preço do produto. O Brasil destaca-se no mundo em relação à cultura do milho como produtor, consumidor e exportador. O milho está na história do país desde os primórdios do descobrimento do país, cultivado basicamente para subsistência humana por ser rica fonte de energia, o cultivo do milho passou a ganhar importância com o tempo e transformou-se no principal insumo para produção de animais, além de sua importância estratégica para a segurança alimentar brasileira ao longo dos últimos anos.

Embora o milho apresente uma alta taxa fotossintética, é uma cultura muito influenciada por problemas de estresse ambiental, os quais se destacam à baixa fertilidade dos solos. Para Dortora et al. (2013a), o nitrogênio (N) constitui componentes essenciais da célula sendo considerado um nutriente fundamental na produtividade da cultura. Entretanto, os solos brasileiros apresentam baixo teor de N disponível, tornando a adubação nitrogenada essencial para o cultivo. Plantas com deficiência de nitrogênio apresentam amarelamento nas folhas mais velhas, se não corrigido pode ocorrer clorose generalizadas e perda foliar. Em alguns casos, podem acontecer deformações nas pontas da espiga.

Surge à necessidade de incorporar práticas agrícolas com novas tecnologias que visem aumentar a produção. Em uma alternativa, é o benefício do aproveitamento em que a associação proporciona entre bactérias diazotróficas e culturas de grande interesse econômico, capazes de gerar incrementos no desenvolvimento e na produtividade e promover o crescimento da cultura.

As bactérias diazotróficas são microrganismos capazes de fixar o nitrogênio atmosférico, através de processos químicos. Esses microrganismos podem viver em vida livre ou em associação com outros organismos. No caso, os de vida livre, as bactérias conseguem fixar o nitrogênio sem precisar de outro organismo, por elas si, para seu próprio uso.

Dentre as bactérias diazotróficas encontradas em associação com cereais e gramíneas de interesse agrícola, as espécies do gênero *Azospirillum* tem sido os mais relatados e encontrados em pesquisas científicas. Esses microrganismos quando presentes nas plantas em

quantidades apropriadas estimulam a densidade e o comprimento de pelos radiculares, assim também o aparecimento de raízes laterais e a área de superfície de raiz. Com este aumento de raízes potencializa o aproveitamento e utilização de nutrientes e água resultando melhor desenvolvimento das plantas e maior produtividade das culturas.

Em muitos trabalhos como o de Hungria et al(2010) apud Nakao et al(2014), quando é realizada a inoculação das bactérias diazotróficas, obtém-se vários ganhos e rendimentos ou possibilidade de redução de adubações nitrogenadas, sem haver perdas na produtividade. Em outros, a fixação consegue suprir em parte do nitrogênio necessário como em Fukami et al (2016). Em alguns casos, pode haver a simples inoculação para se obter bons rendimentos ou de ganhos em crescimento. A literatura também relata nenhum ganho pela inoculação (MUMBACK et al., 2017).

Segundo Hungria (2011), as bactérias associativas diferentes das simbióticas, excretam uma parte do nitrogênio, parcialmente a necessidade da planta. Deve-se lembrar que a inoculação de não leguminosas com bactéria associativas, ao contrário das leguminosas, ainda que consigam fixar o nitrogênio, não conseguem suprir totalmente as necessidades de nitrogênio da planta.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a resposta agrônômica de doses distintas do inoculante a base da bactéria *A. brasilense* nos estádios iniciais de desenvolvimento do milho safrinha.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido, no período junho a julho de 2017, na casa de vegetação, do Centro Universitário do Cerrado Patrocínio (UNICERP), situada na Avenida Líria Terezinha Lassi Capuano, 466. Localizada na cidade Patrocínio, MG, região do Alto Paranaíba, com coordenadas geográficas 18°57'26.00"S de latitude e 46°58'59.34"W de longitude e altitude aproximadamente 945 metros.

Segundo a classificação de Köppen(1936) apud Alcântara (2012), o clima é Aw(tropical em altitudes elevadas, com verões úmidos e quente e inverno seco e frio) com temperaturas anual entre 7°C a 35°C.

Utilizou-se solo classificado como latossolo vermelho-amarelo (EMBRAPA,2006), proveniente da fazenda experimental da FUNCERP(Fundação Comunitária Educacional e Cultural Patrocínio) mantenedora da instituição UNICERP, as duas fixadas no mesmo campus

universitário. O solo foi coletado na camada de 0 a 20 cm, localizado em um relevo suave ondulado e com um histórico de cultivo de milho e soja. Foi destorroado, peneirado e transferido para os vasos de garrafa pet, com volume de um dm³(1 litro). Os vasos utilizados foram garrafas pet com furos embaixo para ocorrer à drenagem da água, sem que ocorra a perdas dos nutrientes. As características químicas do solo coletado estão apresentadas na tabela 1.

Propriedas	Amostra (0-20)
pH (H ₂ O)	5,7
P me ^h - ¹ (mg dm ⁻³)	3,6
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,61
Ca ⁺² (cmol _c dm ⁻³)	1,52
Mg ⁺² (cmol _c dm ⁻³)	0,74
Al ⁺³ (cmol _c dm ⁻³)	0,08
H+Al (cmol _c dm ⁻³)	3,1
M.O. (dag kg ⁻¹)	3,87
SB (cmol _c dm ⁻³)	2,87
t (cmol _c dm ⁻³)	2,95
T (cmol _c dm ⁻³)	5,9
V(%)	48
m(%)	3

Tabela 1. Resultados da análise de solo da fazenda experimental - Patrocínio, 2016.

Foi utilizado o delineamento experimental em bloco casualizado com 4 tratamentos, sendo 6 repetições, perfazendo um total de 24 parcelas experimentais.

Os tratamentos experimentais estão descritos na tabela 2.

Tratamentos	Doses de <i>Azospirillum brasilense</i> (-)ml ha ⁻¹
T1	0
T2	100
T3	200
T4	300

Tabela 2. Tratamentos experimentais da inoculação *A. brasilense* em sementes de milho cultivado em vasos.

No enchimento dos vasos foram aplicados 300 kg ha⁻¹ de Map (8% de N e 48% de P₂O₅), sendo incorporado no solo. No plantio das sementes, elas foram inoculadas e imediatamente plantadas, tratamento feito em laboratório. O inoculante contém a garantia de

concentração de $2,0 \times 10^8$ UFC= Unidades formadoras de colônias, formadoras de colônias. Para serem tratadas as sementes, foi recomendado para representar hectares, 60 mil sementes.. Para facilitar o tratamento foi tratado 100 sementes para cada tratamento (para cada tratamento seria usado somente 24 sementes, isso dificultaria, na medida da dosagem), descrito na tabela 1.

A semeadura foi realizada adicionando-se quatro sementes por vasos de uma cultivar de milho que já havia sido tratada pela empresa com fungicida e inseticida (respectivamente os ingredientes ativos dos mesmos, fipronil e clotianidina, dado fornecido pela empresa). O híbrido utilizado foi riber 9330, com tecnologia PRO2, a cultivar adquirida apresenta tolerância a pragas e possibilita um manejo eficiente contra plantas daninhas com controle de glifosato, além de ter dupla aptidão tanto com grão, quanto para silagem.

Durante a condução experimental a irrigação foi feita pela parte da manhã, em dias alternados mantendo-se a umidade da capacidade do campo.

Aos 10 DAP (dias após o plantio) foram desbastadas duas plântulas e deixada somente duas por vaso. No mesmo dia, foi feita a cobertura com 250 kg ha^{-1} de KCl (60% de K_2O) e 277 kg ha^{-1} de ureia (45% de N). Estas quantidades foram recomendadas (plantio e cobertura) de acordo com o uso da região, aplicado 150 kg de nutriente de NPK.

Foram colhidas as plantas com 32 DAP, retiradas do vaso foram levadas para o laboratório onde foram avaliados as variáveis.

As variáveis analisadas foram altura da parte aérea (a partir do colo até o ápice), massa verde da parte aérea, massa seca da parte aérea, massa verde da raiz, massa seca da raiz e teor de nitrogênio na massa seca da parte aérea. A medida da altura da parte aérea foi realizada com auxílio de uma régua graduada. Foi pesada a parte aérea e as raízes ainda verdes. Em seguida colocadas em sacos de papel, identificadas e levadas à estufa de circulação forçada de ar a $65 \text{ }^\circ\text{C}$ por 72 h. Foi realizada a pesagem em uma balança de precisão (0,001 gramas). Tanto na massa verde, assim como na massa seca. Para a avaliação do teor de nitrogênio, foi enviado ao laboratório para análise de folha. Foi feita a partir da digestão sulfúrica do tecido vegetal, utilizando a massa seca da parte aérea secada a estufa, conforme metodologia de Tedesco et al. (1995).

Os dados experimentais obtidos foram avaliados pela análise de regressão, com uso dos procedimentos disponíveis no programa estatístico SisvaR versão 5.6 (Ferreira, 2014).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foi possível observar que o milho sofreu uma influência negativa da *A. brasilense* nas dosagens de 100 e 200 ml ha⁻¹ para a variável altura e massa seca de raiz, sendo suas doses mínimas de 183 ml ha⁻¹ e 128 ml ha⁻¹. E verificou que o T4 que equivale à dose de 300ml ha⁻¹ da bactéria promoveu o maior crescimento em altura da planta (gráfico 1) e maior peso de massa seca de raiz (gráfico 2), em relação aos demais tratamentos. Como pode ser observado nos gráficos abaixo:

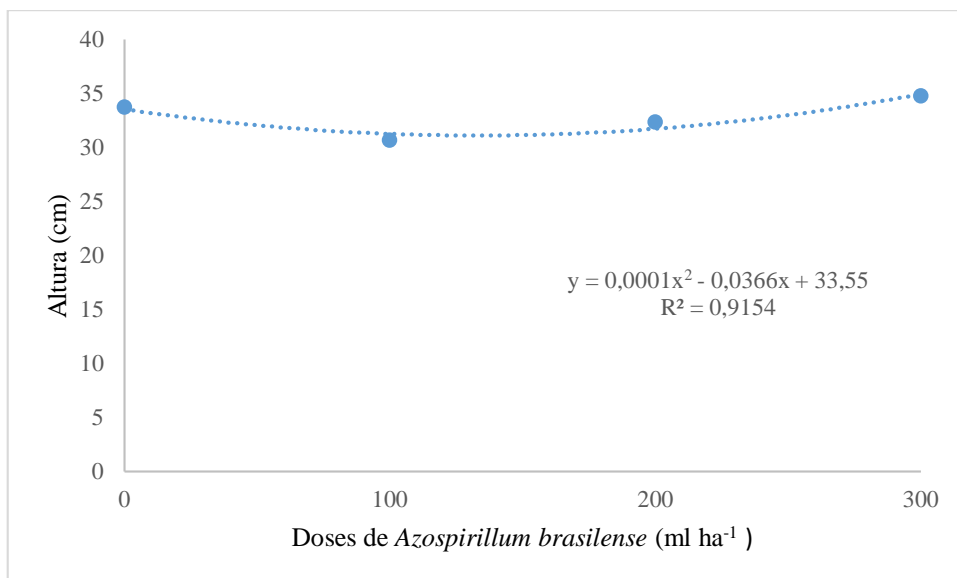


Gráfico 1. Resultados das doses da inoculação *A. brasilense* sobre a altura (cm), em milho cultivada em vasos.

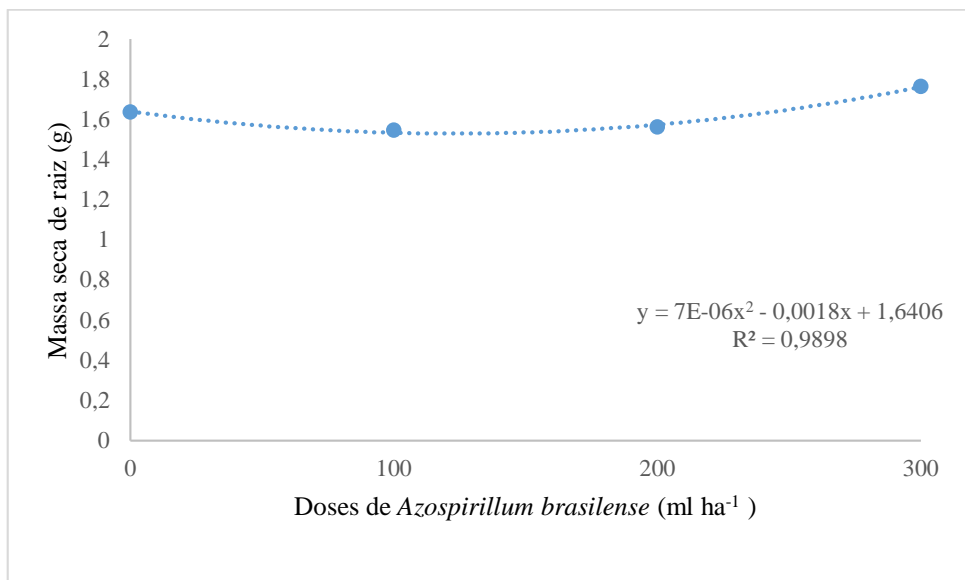


Gráfico 2. Resultados das doses da inoculação *A. brasilense* sobre massa seca de raiz (g), em milho cultivado em vasos.

O desenvolvimento inicial do milho é uma fase que necessita disponibilidade de nutriente, especialmente de nitrogênio, a planta nesta época eleva a demanda desse nutriente para crescimento. A altura observada discorda dos resultados encontrados por Nakao et al. (2014), que obtiveram aumento linear significativo, em resposta do aumento das dosagens da bactéria *Azospirillum brasilense* sobre a cultura do sorgo. A influência da inoculação da bactéria tem sido escrita por autores como o Kappes et al. (2011) que trabalhando com o milho, relataram aumento de altura nas plantas devido ao uso da mesma inoculada. O processo de crescimento depende da disponibilidade de N para realização da absorção, síntese de proteína, respiração, fotossíntese, multiplicação e diferenciação celular proporcionando assim uma vegetação verde e abundante, com rápido crescimento e aumento de folhagens. (Okumura et al., 2011).

A massa seca de raiz também apresentou efeito significativo no trabalho de Dartora et al. (2013b), quando usado inoculante *Azospirillum b* no desenvolvimento de inicial do milho proporcionou maiores medias. Isso foi pode ser observado nos benefícios da bactéria que foi citado em Hungria (2011), com a produção de fito hormônios podem estimular o crescimento das raízes das plantas.

Para massa verde de raiz ocorreu o inesperado, a testemunha apresentou maior peso, e a curva foi decrescente conforme o aumento das doses, obtendo valor mínimo aproximado na dose de 191 ml ha⁻¹, como pode ser visto no gráfico 3. Na massa seca de parte aérea não

apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos como pode ser encontrado no gráfico 4. Os gráficos se encontram abaixo:

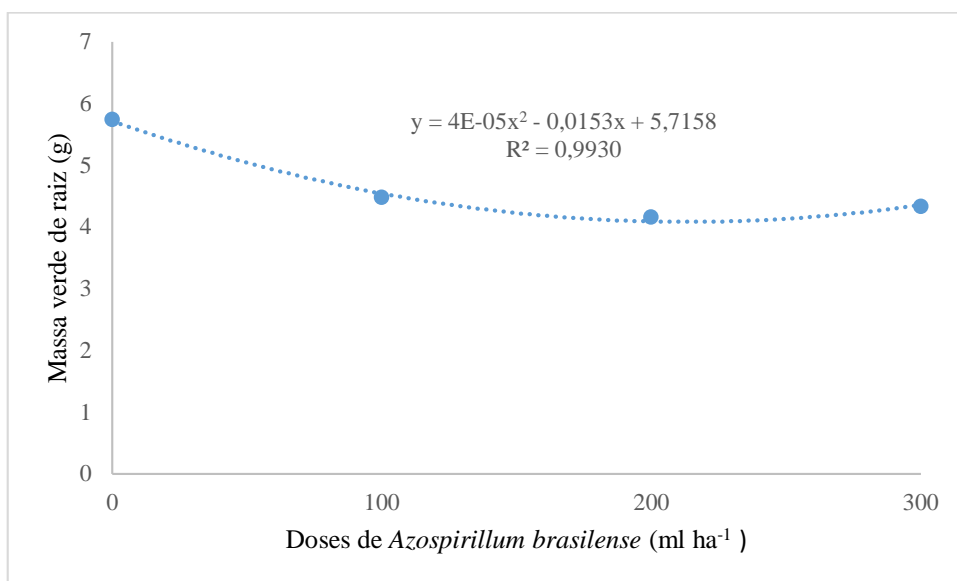


Gráfico 3. Resultados das doses da inoculação *A. brasilense* sobre massa verde de raiz (g), em milho cultivada em vasos.

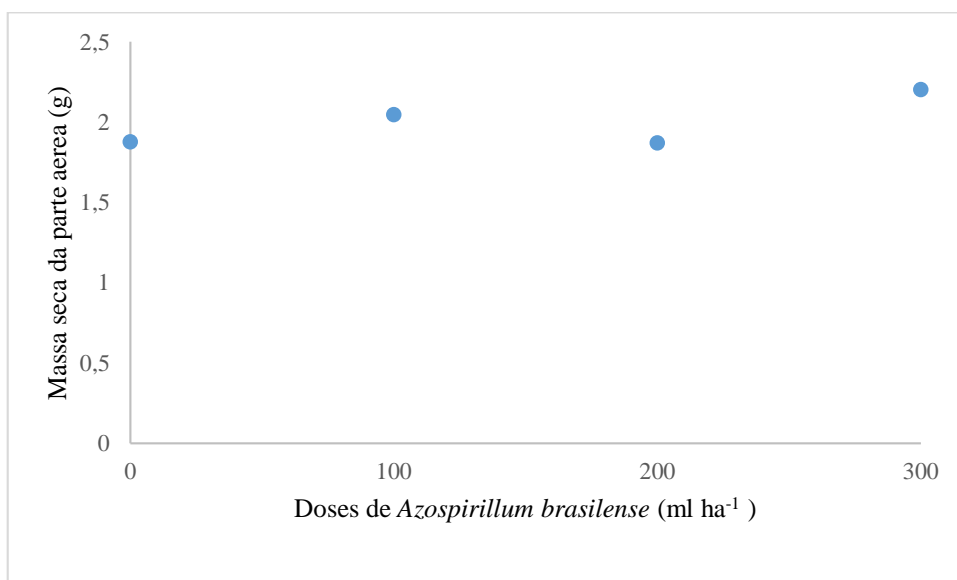


Gráfico 4. Resultados das doses da inoculação *A. brasilense* sobre massa seca de parte aérea (g), em milho cultivada em vasos.

A utilização de doses distintas do inoculante a base dessa bactéria foi confirmada por Roberto et al.(2010) que não promoveu incrementos na massa verde de raiz, e não foi visto acúmulo de massa seca de parte aérea Esse resultado também foi confirmado na pesquisa de

Campos et al (2000), quando trabalhando com inoculação de *Azospirillum* não encontraram respostas agronômicas favoráveis a associação durante o cultivo de trigo, aveia e milho para nenhum parâmetros analisados.

Assim como a massa verde da raiz (gráfico 5), quanto o teor de nitrogênio (gráfico 6) não apresentou efeito significativo, como pode ser visto no gráfico abaixo:

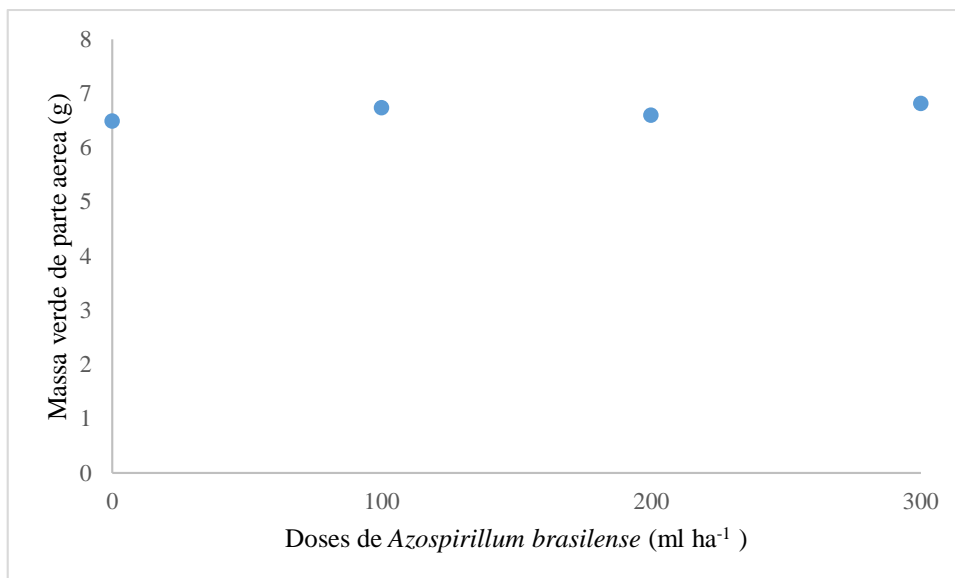


Gráfico 5. Resultados das doses da inoculação *A. brasilense* sobre massa verde de parte aérea (g), em milho cultivada em vasos.

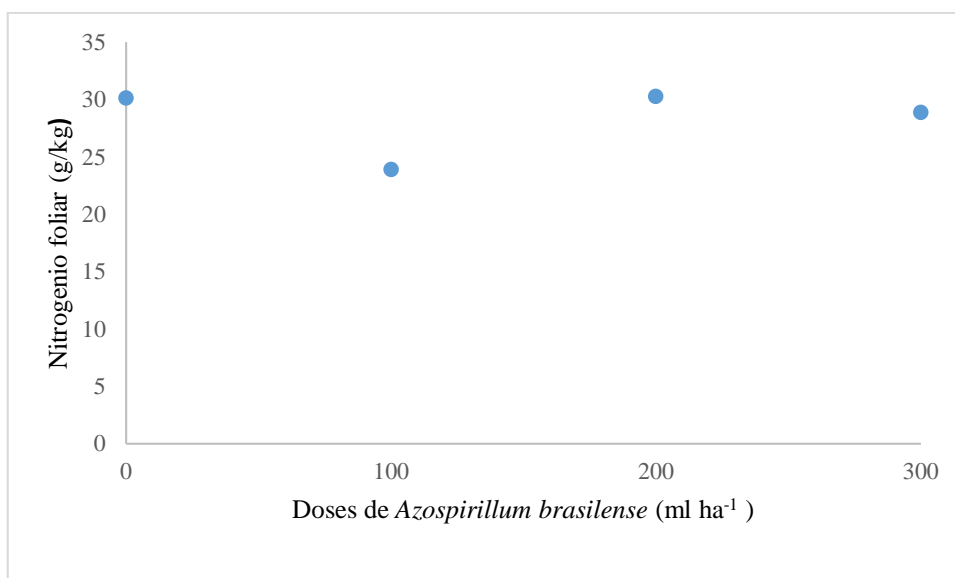


Gráfico 6. Resultados das doses da inoculação *A. brasilense* sobre Teor de nitrogênio (g kg⁻¹), em milho cultivada em vasos..

No trabalho realizado por Quadros (2009), apresentou resultados diferente do encontrado neste. Experimentando a inoculação da *Azospirillum* no milho no estado Rio Grande do Sul, o tratamento que recebeu a dosagem do adubo mineral apresentou efeito estatístico superior aos demais tratamento. Para o teor de N, embora ter apresentado efeito linear significativo no trabalho de Araújo et al. (2014), através de disponibilidade desse nutriente por meio da matéria orgânica, apresentou diferença neste trabalho. Como foi visto por Vande Broek et al. (1992) apud Moraes et al.(2012) a presença de N no solo, como amônia e nitrato (são formas absorvidas pelas plantas), podem inibir a atividade da enzima nitrogenase. Provavelmente aonde haja níveis altos de fertilizantes não tenha um bom rendimento as bactérias do gênero *Azospirillum*.

Para Dortora et al. (2013a), quando trabalhou com o inoculante *H. seropedicae* combinado com BPCV, as respostas foram positivas por ela ser um microrganismo endófito, que sobreviveu pouco no solo e colonizando o interior das plantas. Essa colonização sofre menos competição, por ser rápida, demonstrando ser um potencial quando inoculado de microrganismo endófitos

Há muitos trabalhos que citam os benefícios da inoculação das bactérias no desenvolvimento das plantas, porém neste trabalho não foi apresentado efeito significativo geral. Há muitos fatores associados à bactéria, que podem variar as respostas ao inoculante, conforme as condições dos ensaios, as características físicas e químicas do solo, a técnica da inoculação e interações entre microrganismos com as comunidades nativas do solo. Esses fatores podem afetar a quantidade da população da bactéria e assim influenciar não diretamente a fixação e a produção de fito reguladores, e consequentemente afetando os parâmetros crescimento do vegetal. Em condição de casa de vegetação, o solo utilizado não foi esterilizado, possivelmente ocorreu maior competição entre microrganismos, afetando a bactéria na colonização nas plantas (MORAIS et al., 2014).

De modo geral, a aplicação de doses crescentes da bactéria diazotrófica *A. brasilense* proporcionou maior produção de matéria seca de raiz e de altura. Porém, ocorre exceções nas demais variáveis, como matéria seca de parte aérea, matéria verde de parte aérea, massa verde de raiz e teor de nitrogênio, em que as doses não apresentaram ganhos

4 CONCLUSÃO

Concluir se que a dose de 300 ml ha⁻¹, com a bactéria *Azospirillum brasilense* via semente, influenciou positivamente apenas a massa seca de raiz e a altura de plantas.

REFERÊNCIAS

ALCANTARA, C.B. **Desenvolvimento vegetativo de linhagens de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) nas condições de cerrado em Patrocínio-MG.** Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2012. . (Dissertação de Mestrado)

ARAUJO, E.D. **Doses de nitrogênio e inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho em condições férteis Dourados:** Acta Agronômica, 2015. p16-23. ISSN 0120-2812 | e-ISSN 2323-0118

CAMPOS, B. C.; et al. Avaliação do inoculante "Graminante" na cultura de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n4, p. 713-715, 2000.

DARTORA, J. et al. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.10, p. 1023-1029. 2013a.

DARTORA, J. et al. **Influência do tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo inoculados com *Azospirillum brasilense*.** Scientia Agrária Paranaensis. Mal. Cdo. Rondon, v. 12, n. 3, p.175-181, 2013b.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de pesquisa .Centro Nacional de Pesquisas de solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos** Rio de Janeiro:EmbrapaSolos,2006.360p.

FERREIRA, Daniel Furtado. **Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons.** *Ciênc. agrotec.* [online]. 2014, vol.38, n.2 [citado 2015-10-17], pp. 109-112 . Disponible en: ISSN 1413-7054. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.

FORNASIERI FILHO, D.F. **Manual da cultura do milho.** Jaboticabal: Funep, 2007.576p.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo.** Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p. Documento/ Embrapa Soja, ISSN 1516-781X, n325)

KAPPES, C. et al. **Desempenho de híbridos de milho em diferentes arranjos espaciais de plantas.** Bragantina, Campinas. V.70, n.2, p. 334-343,2011.

MORAIS, T.M. **Adubação Nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense* em híbrido de milho**. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2012. (Dissertação de Mestrado).

MUMBACH, G.L. Resposta da inoculação com *Azospirillum brasiliense* nas culturas de trigo e de milho safrinha. **Revista Scientia Agrária**. Curitiba-PR, v.18,n.2, 2017, p.97-103.

NAKÃO, A.H. et al. Respostas do sorgo granífero à aplicação de diferentes doses e épocas de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via foliar. **Enciclopédia Biosfera: centro científico conhecer**. Goiânia GO, v.10, n.18; p 2703, 2014.

OKUMURA, R.S. et al. Uso de fertilizantes nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Revista Brasileira de tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava-PR,v4, n.2,p.226-244,2011.

QUADROS,P.D. Inoculação de *Azospirillum spp*. Em semente de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 2009. (Dissertação de Mestrado)

ROBERTO, V.M.O. et al. Resposta da cultura do milho à aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente. **Associação Brasileira de milho e sorgo**: Goiânia, p. 2429-2434. 2010.

REPKE, R. A. et al. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 12, 2003 214-226p.

TEDESCO, M. J. et al.. **Análises de solos, plantas e outros materiais**. Departamento de Solos da Faculdade de Agronomia . Porto Alegre, 2. ed. 1995 174p. (Boletim Técnico, 5).

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O milho é uma das culturas mais cultivada no mundo, sendo assim adoção de novas tecnologias para reduzir custos, e além de reduzir impactos ambientais causados por produtos químicos. A utilização de bactérias diazotróficas que fixam nitrogênio podem ainda fornecer outros componentes como fito hormônios e entre outros.

Nesse presente trabalho a inoculação na semente não apresentou a utilização satisfatória. O experimento realizado em vasos e a utilização de nitrogênio no plantio e na cobertura pode ter sido um dos motivos para não respostas favoráveis, isso devido a competição no solo, atrapalhando a fixação de interesse agrônômico entre planta e bactéria.

REFERÊNCIA

ARAUJO, S. C. *Azospirillum* promove aumento de até 5% em produtividade no milho **Revista campo e negócio**. Disponível em:

<<http://www.revistacampoenegocios.com.br/azospirillum-promove-aumento-de-20-em-produtividade-no-milho.html>>. Acesso em: 13 set. 2017.

BARROS, J.F.C; CALADO, J.C. **A Cultura do milho**. Universidade de Évora. Évora, 2014. 52p.

CADORE, R. **Associação entre *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada em híbridos de milho**. Universidade Federal de Goiás. Regional Jataí, 2014. (Dissertação de Mestrado).

COELHO, A.M.; FRANÇA,G.E. **Seja doutor do seu milho: Nutrição e adubação**. 2 ed. Piracicaba: Potafos, 1995. 25p

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v. 4 -Safra 2016/17, n. 12 –Décimo Segundo Levantamento, Brasília, 158p set. 2017

CRUZ, J. C. et al. **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 517p.

DUARTE, J. O. **Importância Socioeconômica do milho**. Agencia Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em:
<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/CONTAG01_8_168200511157.html>. Acesso em: 10 set 2017.

FORNASIERI FILHO, D.F. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 2007.576p.

GIRACCA, E.M.N.;NUNES,J.L.S. **Nitrogênio**. Agrolink..Disponível em:
<https://www.agrolink.com.br/fertilizantes/nitrogenio_361444.html>. Acesso em: 10 set 2017.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p. Documento/ Embrapa Soja, ISSN 1516-781X, n325)

KOWALSKI, A.N. USDA reduz produção mundial de milho safra 2017/18. **Revista mais soja** Disponível em: <<http://maissoja.com.br/usda-reduz-producao-mundial-de-milho-safra-201718.html>>.. Acesso em: 10 set 2017

MELGAR, R.J. et al. A. Doses e épocas de aplicação fertilizante nitrogenado para o milho em Latossolo da Amazônia Central. **Revista Brasileira de Ciências**. Solo, 15:289-296, 1991.

MORAIS, T.M. **Adubação Nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense* em híbrido de milho**. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2012. (Dissertação de Mestrado).

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed. Porto Alegre: ARMED, 2009.849p.

SANTOS, V S. **Ciclo do nitrogênio** Mundo e educação. Disponível em: <<http://mundoeducacao.bol.uol.com.br/biologia/ciclo-nitrogenio.html>>. Acesso em: 10 set 2017>. Acesso em 13 set. 2017.