

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA**

**RUYZETTE ROSA PIRES**

**INDICADORES AGRONÔMICOS E PRODUTIVIDADE DE MILHO EM FUNÇÃO  
DA INOCULAÇÃO COM *Azospirillum* sp.**

**Uberlândia – MG  
Setembro – 2011**

**RUYZETTE ROSA PIRES**

**INDICADORES AGRONÔMICOS E PRODUTIVIDADE DE MILHO EM FUNÇÃO  
DA INOCULAÇÃO COM *Azospirillum* sp.**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao curso de Agronomia, da  
Universidade Federal de Uberlândia, para  
obtenção do grau de Engenheiro  
Agrônomo.

Orientador: José Magno Queiroz Luz

**Uberlândia – MG  
Setembro – 2011**

**RUYZETTE ROSA PIRES**

**INDICADORES AGRONÔMICOS E PRODUTIVIDADE DE MILHO EM FUNÇÃO  
DA INOCULAÇÃO COM *Azospirillum* sp.**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao curso de Agronomia, da  
Universidade Federal de Uberlândia,  
para obtenção do grau de Engenheiro  
Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 03 de Novembro de 2011.

Eng. Agrônoma Tâmara Prado de Morais  
Membro da Banca

Eng. Agrônoma Suelen Martins de Oliveira  
Membro da Banca

---

Prof. Dr. José Magno Queiroz Luz  
Orientador

## **DEDICATÓRIA**

Neste momento da minha vida estou confuso. Não sei onde os caminhos me levarão e qual caminho seguir. Porém, o caminho que me trouxe até estas palavras foi repleto de amor, amizades, carinho e compreensão. Houve momentos difíceis, mas com a força de meus pais superei a todos. Eles não me deixaram cair. Dedico este trabalho ao meu pai, minha mãe e minhas irmãs por tudo que tenho e que sou. Se hoje escrevo estas frases é porque eles desvendaram os símbolos e me mostraram o significado de cada letra e palavra. Aos amigos de antes e de hoje desejo-lhes a maior dádiva do mundo. A FELICIDADE. Não os esquecerei, pois sempre estarão comigo na memória e no coração. A você pequena só me resta amá-la e dar-lhe tudo de mim. Amo amar você.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à empresa AMINOAGRO pelo auxílio de bolsa de pesquisa, à FAPEMIG (processo: **APQ-02889-09**) pelo auxílio financeiro a projeto de pesquisa do Instituto de Ciências Agrárias, aos amigos Eduardo Magno de Almeida Filho e Fernanda Mordin pela ajuda na avaliação do trabalho, aos professores José Magno Queiroz Luz e Adão de Siqueira Ferreira pelos conhecimentos fornecidos e pela ajuda sincera.

## RESUMO

O *Azospirillum* sp. que neste trabalho recebeu o código de (AZ), é uma bactéria com capacidade de fixar nitrogênio atmosférico quando em associação com plantas não-leguminosas, com implicações positivas no crescimento vegetal. O objetivo do trabalho foi verificar a eficácia do uso de *Azospirillum* sp. como biofertilizante no incremento de raízes, matéria seca e indicadores agrônômicos na cultura do milho. Os experimentos foram realizados na cidade de Uberlândia, sendo um em casa de vegetação de propriedade da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e outro em campo na fazenda Glória, pertencente à mesma instituição. O estudo na casa de vegetação foi conduzido em vasos de barro de 1L de capacidade preenchidos com Latossolo Amarelo, 4 repetições (DBC) e 7 tratamentos, enquanto no campo o solo foi Latossolo Amarelo em delineamento de blocos casualizados com 4 repetições e 6 tratamentos. Nas duas situações o *Azospirillum* sp. foi inoculado antes da semeadura via sementes. A resposta da inoculação em relação à massa fresca de parte aérea, massa fresca de raiz, volume de raiz, massa seca de parte aérea e massa seca de raiz foi comparada com a aplicação de soluções nutritivas (sem solução, com solução e solução com inoculação) em casa de vegetação, enquanto no campo avaliou-se a porcentagem de emergência, diâmetro de colmo em dois estádios (V<sub>5</sub> e colheita) e produtividade com aplicação de nutrientes na semeadura (N, P, K) e cobertura (N). Os vasos em casa de vegetação receberam irrigação todos os dias às 09:00 e 15:00 horas, enquanto a campo a cultura foi manejada na safra. Os vasos foram dispostos sobre bancadas e receberam solução nutritiva a cada 7 dias, sendo iniciado o fornecimento 15 dias pós semeadura. Em casa de vegetação, a inoculação com *Azospirillum* sp resultou em aumento de todas as variáveis analisadas quando comparado com apenas a adição de nutrientes, sendo que a adição de micronutrientes resultou em relação negativa entre rizosfera e microrganismos, evidenciada pelos atributos agrônômicos na cultura do milho. Na relação VR/MSR, verificou-se aumento significativo nos tratamentos com apenas inoculante, mostrando que a bactéria melhora o ambiente radicular, pela capacidade de sintetizar e excretar fitormônios. No campo não se observou diferença entre tratamentos quanto à porcentagem de emergência. Porém, quanto ao diâmetro do caule, a inoculação com AZ e associada ao fornecimento de N resultou em aumento significativo em comparação ao tratamento com AZ sem adição de nutrientes. O rendimento de grãos foi 20% maior no tratamento com AZ e 100kg de N ha<sup>-1</sup> em comparação ao tratamento com apenas adição de nutrientes. O tratamento com a inoculação apenas de AZ,

não diferiu dos tratamentos com nutrientes. Sugere-se que AZ favorece o sistema radicular com implicações positiva no desempenho do milho nas condições casa de vegetação e de campo em Latossolo Amarelo no município de Uberlândia-MG.

**Palavras-chave:** atributos agronômicos, inoculante, rendimento de grãos.

## ABSTRACT

The *Azospirillum* sp. which, in this work, received the code (AZ), is a bacterium capable of fixing atmospheric nitrogen when it is associated with non-leguminous plants, with positive implications in plant growth. The objective of this work was to assess the efficacy of *Azospirillum* sp. as biofertilizer in the growth of roots, dry matter and agronomic indicators in maize crop. The experiments were made in the city of Uberlândia (Brazil), one of the experiments took place in the greenhouse belonging to the Federal University of Uberlândia (UFU) and the other in a field situation on the farm “Glória” which belongs to the same institution (UFU). The study in the greenhouse was realized in clay jars with 1L of capacity, filled with yellow Latosol, 4 repetitions (DBC), and 7 treatments, while in the field context the soil was Yellow Latosol in a randomized block design with four repetitions and 6 treatments. In both situations, the *Azospirillum* sp. had been inoculated before sowing. The inoculation's response regarding fresh matter of aerial parts, fresh matter of roots, root volume, dry matter of aerial parts and dry matter of root was compared with the application of nutrient solutions (without solution, with solution and with solution and inoculation) in the greenhouse, while in the field situation we evaluated the percentage of emergence, culm diameter in two stages (V5 and harvest) and productivity with nutrient application at sowing (N,P,K) and coverage (N). The pots in the greenhouse were irrigated every day at 09:00 and 15:00, while the field was managed in the harvest. The pots were arranged on benches and received nutrient solution every seven days after day 15<sup>th</sup>. In the greenhouse the inoculation of *Azospirillum* sp. resulted in increases in all variables when compared with just the addition of nutrients, and the addition of micronutrients resulted in negative interaction between rhizosphere and microorganisms, as evidenced by the agronomic traits in maize. In the RV/RDM, there was a significant rise in the treatments with inoculation only, showing that the bacterium improves the root environment, with the ability to synthesize and excrete phytohormones. In the field situation there was no difference between treatments on the percentage of seed germination. However, concerning the culm diameter, the inoculation with AZ associated with the addition of N resulted in a significant rise compared to treatment with no added nutrients AZ. The yield was 20% higher in treatment with AZ and 100Kg N/ha in comparison with treatment with only the addition of nutrients. The treatment with inoculation of AZ only did not differ from the treatments with nutrients. It is suggested that AZ fosters the

root system with positive implications on the performance of maize in greenhouse conditions and in field conditions with Yellow Latosol in the city of Uberlândia-MG.

**Key-words:** agronomic traits, inoculant, grain yield.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	12
2.1	Descrição botânica, aspectos morfológicos e fisiológicos do milho.....	12
2.2	Necessidade nutricional (nitrogênio-N) .....	13
2.3	Fixação biológica do nitrogênio no sistema solo-planta .....	14
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	17
3.1	Casa de vegetação .....	17
3.2	Experimento em campo.....	18
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	20
4.1	Casa de vegetação .....	20
4.2	Experimento em campo.....	22
5	CONCLUSÕES .....	25
	REFERÊNCIAS.....	26

## 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta originária das Américas havendo indicações de que sua origem tenha sido no México, América Central ou Sudeste dos Estados Unidos, com maiores evidências relacionada ao México. “É uma das culturas mais antigas do mundo, havendo provas, através de escavações arqueológicas e geológicas, e através de medições por desintegração radioativa, de que é cultivado há pelo menos 5.000 anos” (EMBRAPA, 2000).

A importância econômica do milho e sua disseminação pelo todo mundo são caracterizadas pelas diversas formas de sua utilização, desde base da alimentação até a indústria de alta tecnologia, ocupando lugar de destaque não só pelo progresso nas tecnologias utilizadas no cultivo deste cereal, mas também pelo potencial que apresenta. Os três maiores produtores mundiais de milho são Estados Unidos, China e Brasil, sendo o Japão o maior consumidor. Alguns produtores brasileiros possuem alto nível tecnológico, porém os pequenos produtores de nível tecnológico inferior são responsáveis pela baixa produtividade média nacional, próxima de 4390kg ha<sup>-1</sup> na primeira safra (CONAB, 2011). “Dentro da produção nacional de cereais e oleaginosas, o desempenho da lavoura de milho tem efeito direto e significativo sobre o volume de colheita” (BÜLL; CANTARELLA, 1993).

Trata-se de uma cultura onde se usa altas doses de adubo nitrogenado, portanto, uma possível fixação biológica feita por bactérias, representaria ganhos de produção, já que o nitrogênio é, em geral, o elemento que as plantas necessitam em maior quantidade (MALAVOLTA, 1979). “Nos agrossistemas, o adubo nitrogenado é o principal veículo de adição de N e um dos insumos de maior importância pelo desempenho crescente na produtividade vegetal e pelo atendimento da demanda de alimentos.” (YAMADA et al., 2007). O nitrogênio é um nutriente relacionado a importantes processos fisiológicos que ocorrem nas plantas, como fotossíntese, respiração, desenvolvimento e atividades das raízes, absorção iônica de outros nutrientes, crescimento, diferenciação celular e genética (GUSMÃO, 2010).

As bactérias do gênero *Azospirillum* são organismos com capacidade de fixação de nitrogênio, podendo viver em associação com a rizosfera das plantas, estando presentes tanto dentro quanto fora das raízes (DIDONET et al., 1996), podendo gerar uma economia anual no setor agrícola com a substituição do uso de adubos nitrogenados pelos inoculantes na ordem de US\$ 2 bilhões (YAMADA et al., 2007).

A associação de bactérias diazotróficas com cereais como, milho, trigo, arroz e algumas gramíneas poderá gerar benefícios consideráveis a produtividade e aos sistemas de cultivo, já existindo inoculantes registrados e comercializados para milho e trigo na Argentina (YAMADA et al., 2007).

O objetivo do trabalho foi verificar a eficácia do uso de *Azospirillum* sp. como biofertilizante no tratamento de sementes, para incremento de raízes e matéria seca.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Descrição botânica, aspectos morfológicos e fisiológicos do milho

O milho (*Zea mays* L.) pertence à família Poaceae, subfamília Panicoidea e ao Gênero *Zea*, contendo 2n cromossomos. São subespécies de *Zea mays* L.: *Zea mays indurata* (milho duro), *Zeamays indentada* (milho dentado), *Zea mays saccharata* (milho doce), *Zea mays amilacea* (milho amiláceo) e *Zea mays everta* (milho pipoca). Em condições ambientais normais (25 a 30°C) a germinação e posterior emergência da semente de milho ocorre entre 5 e 6 dias, sendo que a uma temperatura de 10°C praticamente não emerge (CRUZ et al., 1996). Esta planta possui haste (colmo) cilíndrica com nós e entrenós. O primeiro entrenó extremamente curto, sendo os demais crescente em direção a espiga. Acima da espiga os entrenós diminuem de tamanho, com exceção do último que emite o pendão, chamado de “pescoço”. O sistema radicular consiste de raízes seminais, definitivas e de suporte (esporões). As raízes seminais se originam da radícula da semente e garantem a nutrição inicial para a plântula jovem, enquanto as definitivas se originam do quarto a quinto internódio (PATERNIANI; VIÉGAS, 1987).

Em relação às folhas, são dispostas alternadamente e presas a bainha que envolve o colmo, tendo o embrião geralmente de 4 a 5 folhas já diferenciadas. As duas primeiras folhas podem se apresentar arredondadas e também são contadas na avaliação dos estádios fenológicos da planta.

Os limbos foliares podem variar de longos a estreitos, largos ou finos e planos ou quase horizontais a depender do híbrido de milho com uma forte nervura central, geralmente com a superfície superior da folha possuindo esparsos pêlos brancos (PATERNIANI; VIÉGAS, 1987).

Na superfície superior da folha, na junção do limbo com a bainha, existe uma projeção delgada e semitransparente (lígula) que envolve o colmo com função de impedir a entrada de solo e água na bainha (PATERNIANI; VIÉGAS, 1987).

A planta é monóica possuindo inflorescência masculina e feminina, chamadas de pendão e espiga, respectivamente. O pendão é responsável pela produção dos grãos de pólen, enquanto, a espiga depois de fecundada desenvolverá os grãos de milho. O pendão possui um eixo central e ramificações secundárias possuidoras de espiguetas, onde cada espiguetas

consiste dei pálea, lema, gluma inferior ou interna e gluma superior ou externa. O amadurecimento dos grãos-de-pólen ocorre da extremidade do pendão para a base. As espigas emitem em determinado estágio de desenvolvimento os estilo-estígmata que podem receber os grãos-de-pólen em qualquer parte deste. Os primeiros estilo-estígmata a serem formados são os da base da espiga, podendo apresentar coloração creme ou vinho. Após o processo de polinização um número médio de 800 óvulos é fecundado. Caso não haja a fecundação do estilo-estigma, ele pode continuar seu crescimento por 10 a 14 dias, chegando a medir de 30 a 40cm como tentativa de proliferação da espécie (CRUZ et al., 1996). Resultados experimentais relatam que a medida que se acrescenta um grau na temperatura média, superior a 21,1°C, no período de 50 a 60 dias pós sementeira, antecipa-se o florescimento em dois a três dias (FANCELLI; DOURADO NETO, 2001).

## **2.2 Necessidade nutricional (nitrogênio-N)**

A necessidade nutricional do milho, assim como de qualquer planta, é determinada pela quantidade total de nutrientes absorvidos. Segundo Balko e Russel (1980 apud BÜLL;CANTARELLA,1993) o aumento da produtividade proporcionado pelo nitrogênio pode ser atribuído aos seus efeitos sobre o crescimento do sistema radicular e sobre o aumento do comprimento da espiga.

O N está presente em todo o ciclo de vida da planta, desde a germinação da semente ou da emergência até a maturação do fruto ou a senescência das folhas (YAMADA et al., 2007).

O milho necessita de 20 kg de nitrogênio para a produção de 1000kg de grãos. Essa quantidade extrapolada representam 200kg de N para uma produtividade esperada de 10.000kg ha<sup>-1</sup> de grãos.

Os principais compostos e funções do nitrogênio são: absorção iônica por coenzimas, fixação biológica de nitrogênio (FBN) por leghemoglobina, funções relacionadas à pigmentação, síntese de RNA e DNA por nucleotídeos, fotossíntese por clorofila. Além de ser constituinte de proteínas, estar envolvido na síntese de hormônios como ácido indolilacético, enzimas e entrada de N reduzido por amidas (YAMADA et al., 2007).

Em resumo o nitrogênio N confere cor verde às plantas, promovendo rápido crescimento, aumento da folhagem, além de nutrir os microrganismos do solo que decompõem a matéria orgânica (MALAVOLTA, 1979).

Tanto as raízes como as folhas são capazes de absorver N. Nas condições de campo,  $\text{NO}_3^-$  é a forma predominante absorvida pelas raízes, embora também haja absorção de  $\text{NH}_4^+$ . A raiz pode assimilar o nitrogênio via fixação biológica (FBN);  $\text{NH}_4^+$ , da solução do solo ou do adubo;  $\text{NO}_3^-$ , do fertilizante ou da nitrificação, também da solução do solo (YAMADA et al., 2007). Tanto o  $\text{NO}_3^-$  quanto o  $\text{NH}_4^+$  são formas lixiviáveis. No caso do  $\text{NO}_3^-$  a lixiviação ocorre pelo fato deste composto possuir carga negativa, estando disponível na solução do solo, já o  $\text{NH}_4^+$  a lixiviação ocorre porque sua adsorção é muito fraca em relação aos demais cátions do solo, estando também disponível na solução do solo.

Como regra geral o N entra na planta em forma altamente oxidada e necessita sofrer processo de redução assimilatória, sendo que o processo de entrada na planta é conferido por fluxo de massa (YAMADA et al., 2007).

Jordão et al. (2011), relatam que a produtividade do milho cultivado em safrinha respondeu positivamente ao aumento das doses de nitrogênio e que o índice Spad e o teor de N nas folhas de milho crescem linearmente com o aumento das doses de nitrogênio aplicadas.

### **2.3 Fixação biológica do nitrogênio no sistema solo-planta**

Algumas bactérias podem penetrar na raiz do milho onde fixam o nitrogênio do ar ao solo e tendo efeito de uma verdadeira adubação (MALAVOLTA, 1979).

A descoberta mais recente do sistema simbiótico de fixação de nitrogênio é a associação de ervas, trigo, milho e outras plantas com espécies de *Azospirillum* sp., sugerindo a possibilidade de estender a prática da fixação simbiótica do nitrogênio para um grande número de plantas (PELCZAR JUNIOR et al., 2009).

Moreira e Siqueira (2006) relatam em seus resultados que a ocorrência de organismos fixadores de nitrogênio é mais acentuada em espécies gramíneas e outras monocotiledôneas, relacionando-se com espécies dicotiledôneas.

Os azospirilos podem invadir o tecido radicular, fixando nitrogênio que alimenta a planta, por outro lado, obtêm alimento do tecido vegetal. Nódulos não são formados como no sistema *Rhizobium*-leguminosa (PELCZAR JUNIOR et al., 2009).

Trabalhos têm demonstrado que os efeitos da inoculação com diazotróficos no crescimento vegetal podem ser também nutricionais, fisiológicos, morfológicos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O principal efeito de *Azospirillum* sp. parece estar relacionado a promoção do crescimento radicular, que, em condições favoráveis, beneficia a absorção de nutrientes e de água (LIN et al., 1983; KAPULNIK et al., 1985; DUBROVSKI et al., 1994 apud DIDONET, 1996).

Segundo Muñoz-Garcia et al. (1991 apud CAVALLET, 2000) a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasiliense* cepa UAP 77, provocou aumento na matéria seca de raízes, da ordem de 54 a 86% e de 23 a 64% no peso seco da parte aérea.

Didonet et al. (1996) informaram que são muitas as evidências de que a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* seja responsável pelo aumento da taxa de acúmulo de matéria seca, principalmente na presença de elevadas dosagens de nitrogênio, o que parece estar relacionado com o aumento da atividade das enzimas fotossintéticas e de assimilação de nitrogênio. Segundo os mesmos autores (1999) a inoculação proporciona melhor aproveitamento do N acumulado na biomassa, translocando mais eficientemente o N para os grãos.

“Experimentos de campo conduzidos em conjunto pela Embrapa Soja e Universidade Federal do Paraná mostraram que a inoculação de trigo e milho com estirpes de *Azospirillum* spp. proporcionou aumentos significativos na produtividade de grãos dessas duas gramíneas. (YAMADA et al., 2007).

Jordão et al. (2011) afirmam que nos seus estudos todos os fatores que receberam a inoculação das sementes com *Azospirillum* sp. são maiores que os tratamentos não inoculados, comprovando a eficiência da inoculação de sementes de milho com a bactéria.

O regime de N, variando doses e proporções de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ , influencia as características avaliadas com reflexo sobre a produção de matéria seca da parte aérea, conteúdo de N da parte aérea e raízes, eficiência de utilização de N, atividade da nitrato redutase, atividade da glutamina sintetase e açúcares solúveis totais, sendo estas características avaliadas na presença de *Azospirillum* sp. na cultura do milho (REIS JUNIOR et al., 2008).

Machado et al. (1998) afirmam que há efeito da inoculação com bactérias diazotróficas na atividade da glutamina sintetase na raiz, além da interação bactéria e atividade da enzima glutamina sintetase (reação de transferase) dosada na raiz, podendo no

futuro, auxiliar na seleção de genótipos de milho com alta eficiência de absorção de nitrogênio.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Casa de vegetação

O experimento foi realizado em casa de vegetação de propriedade da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), localizada a 18°55'23" de latitude Sul e 48°17'19" de longitude Oeste, com clima Aw segundo Köppen e mantido em vasos de barro com 1 kg de Latossolo Amarelo de textura argilosa no período de 22 de Maio a 24 de Junho. O solo nos vasos foi preparado com 100mg kg<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 100mg kg<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, sendo as fontes Super Simples e Cloreto de Potássio, respectivamente. Em cada vaso foram semeadas quatro sementes do híbrido de milho DKB 390 YG não havendo desbaste, diferindo somente em relação às soluções nutritivas ministradas para cada tratamento. No preparo para a inoculação da bactéria foi usado 5g de sacarose em 50mL de água, e desta solução foi retirada uma alíquota de 2mL e adicionada 0,25mL da amostra do inoculante no formulado concentrado e diluído com auxílio de pipeta automática pós lavagem das sementes em água corrente, conforme informação do fabricante (AMINOAGRO). Após, tratou-se 75g de sementes espalhando-se a solução sobre as mesmas com posterior homogeneização, contabilizando 150g de sementes inoculadas.

Os tratamentos do experimento, com quatro repetições em delineamento de blocos casualizados, foram definidos na Tabela 1.

Tabela 1 – Tratamentos do experimento em casa de vegetação

Tratamento	Composição
T1	Controle (água)
T2	Solução A+B
T3	AZ Diluído
T4	AZ Concentrado
T5	AZ Diluído +C+D+E
T6	AZ Concentrado +C+D+E
T7	A+B+C+D+E

As soluções A e B correspondem a nitrato de amônia (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) e nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>), respectivamente. A solução C constituiu-se de ácido Bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), fosfato de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), iodeto de potássio (KI), molibdato de sódio (Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O) e cloreto de cobalto (CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O). A solução D constituída de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O) e a solução E constituída de sulfatos de magnésio (MgSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O), manganês (Mn SO<sub>4</sub>.4 H<sub>2</sub>O), zinco (Zn SO<sub>4</sub>.7 H<sub>2</sub>O) e cobre (Cu SO<sub>4</sub>.5 H<sub>2</sub>O).

Para cada vaso foram fornecidos 200 mL de solução, sendo o total de nutrientes empregados por quilo de solo: 252,80mg N kg<sup>-1</sup>, 245,30mg K kg<sup>-1</sup>, 31,36mg S kg<sup>-1</sup>, 23,46mg P kg<sup>-1</sup>, 1,50mg B kg<sup>-1</sup>, 0,06mg Mo kg<sup>-1</sup>, 0,0037mg Co kg<sup>-1</sup>, 71,28mg Ca kg<sup>-1</sup>, 22,20mg Mg kg<sup>-1</sup>, 3,28mg Mn kg<sup>-1</sup>, 1,19mg Zn kg<sup>-1</sup>, 0,0037mg Cu kg<sup>-1</sup>.

Os vasos foram irrigados duas vezes ao dia nos seguintes horários: 09:00 e 15:00 hrs. As soluções foram adicionadas semanalmente (200 mL por adição), sendo a primeira solução ministrada 15 dias após a semeadura (estádio V<sub>3</sub>). Por ocasião da aplicação da primeira solução nutritiva realizou-se o desbaste de plantas, resultando em três plantas por vaso após esta operação. Ao final de 34 dias de experimento, avaliaram-se as seguintes características: massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca de raiz (MFR), volume de raiz (VR), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR). Como resposta adicional da cultura, foi determinada a soma dos atributos, a soma de massas secas (parte área e raiz) e a relação VR/MSR. A massa seca foi determinada após a secagem do material vegetal a 65 °C por 48 horas. O volume de raiz foi obtido pela diferença de volume de água dentro da proveta (200mL), ou seja, volume antes e depois da imersão das raízes.

Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas a 5% de significância pelo Teste de Duncan no programa Winstat.

### 3.2 Experimento em campo

O experimento de campo foi conduzido na fazenda experimental do Glória situada em Uberlândia- MG pertencente à Universidade Federal de Uberlândia (UFU), localizada a 18°55'23" de latitude Sul e 48°17'19" de longitude Oeste, com clima Aw segundo Köppen. O presente transcorreu durante safra 2009/2010. As parcelas foram formadas com quatro linhas de milho de 5m de comprimento. Foram utilizadas 5 sementes por metro linear com espaçamento entre fileiras de 80cm, configurando 12500 metros lineares de plantio. Foram colhidos 8 metros na parcela útil, deixando 0,5 metros de bordadura nas extremidades. Os tratamentos foram os seguintes: T1 = AZ + 100 kg N + PK; T2 = AZ + 200 kg N + PK; T3 = NPK + 100kg N; T4 = NPK + 200 kg N; T5 = AZ + PK; T6 = PK. Os nutrientes PK foram aplicados na forma de super simples (200kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>) e cloreto de potássio (100kg k<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup>), respectivamente.

Foram usados 1000 kg do adubo formulado 04-14-08, o que representa 80g m<sup>-1</sup> linear do mesmo adubo. Os 200 kg e 100 kg de nitrogênio foram totais, portanto na cobertura foram utilizados 160 kg e 60 kg de nitrogênio. Não foi utilizado na semeadura o sulfato de amônia, pois este foi fornecido em cobertura. O experimento teve quatro blocos com seis tratamentos, totalizando 24 parcelas. Foram utilizadas sementes do híbrido de milho DKB 390 YG. A inoculação das sementes ocorreu da seguinte forma: inoculação de 500 gramas de sementes com *Azospirillum* sp. sendo, para tanto utilizado 7,5 mL de solução do inoculante adicionada em 60 mL de solução sacarose. No caso das sementes que não receberam o inoculante adicionou-se 7,5 mL de água aos 60 mL de sacarose. No experimento, foram avaliados os seguintes indicativos: porcentagem de emergência de plântulas, diâmetro médio do colmo em dois estádios (25 dias após o plantio V<sub>5</sub> e na colheita de grãos) e produtividade de grãos.

Os resultados foram analisados mediante uma análise de variância e as médias comparadas a 5% de significância pelo Teste de Duncan no programa Winstat.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Casa de vegetação

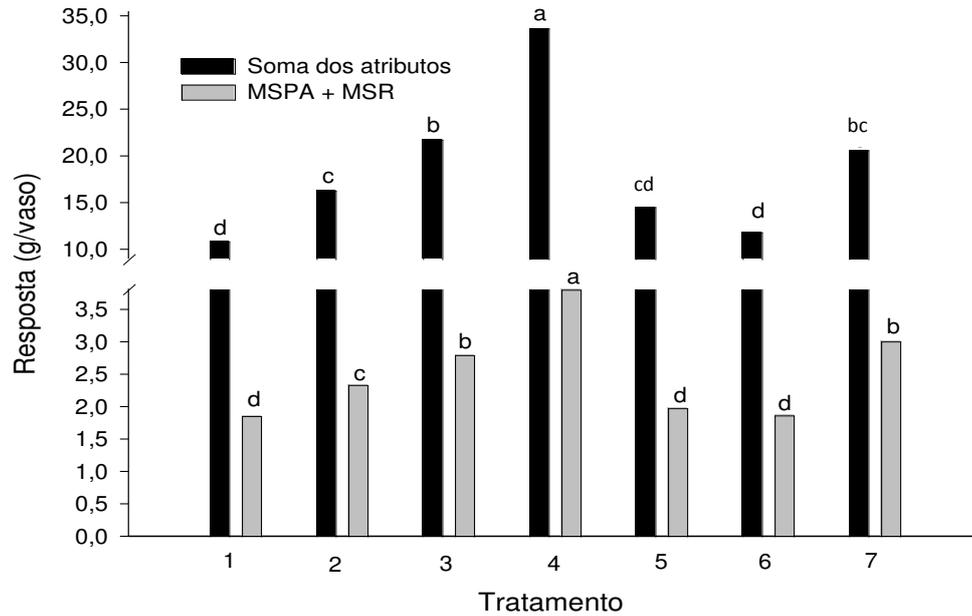
A inoculação com *Azospirillum* sp. resultou em aumentos das variáveis analisadas (MFPA, MFR, VR, MSPA e MSR) quando comparado à adição de nutrientes apenas, sendo o tratamento 4 a maior evidencia do aumento das variáveis (Tabela 2). A adição de micronutrientes afetou negativamente os atributos agronômicos da cultura do milho (Tabela 2). Isso pode ter ocorrido devido ao efeito dos metais sobre o *Azospirillum* sp., interferindo negativamente na relação rizosfera/microrganismos.

Tabela 2 - Resposta da cultura do milho (variáveis em gramas) à inoculação com *Azospirillum* sp. e à adição de nutrientes. Variáveis obtidas de três plantas por vaso.

T*	MFPA	MFR	VR	MSPA	MSR
T1	3,04 b	3,76 b	2,25 b	0,71 b	1,15 b
T2	5,26 ab	5,49 b	3,25 b	1,08 ab	1,26 b
T3	6,60 ab	8,39 b	5,00 ab	1,55 ab	1,25 b
T4	8,78 a	13,3 a	7,75 a	1,77 a	2,04 a
T5	3,86 b	5,66 b	3,25 b	0,79 b	1,19 b
T6	3,03 b	4,46 b	2,50 b	0,79 b	1,08 b
T7	5,80 ab	7,35 ab	4,50 ab	1,42 ab	1,58 ab

\*T = Tratamentos; massa fresca da parte aérea (MFPA); massa fresca de raiz (MFR); volume de raiz (VR); massa seca da parte aérea (MSPA); massa seca de raiz (MSR); Tratamentos seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Duncan a 5%.

Observa-se, quando realizada a soma de todos os atributos e desempenho da cultura (MSPA+MSR), que o tratamento 4 (AZ concentrado) se destaca expressivamente em relação aos demais tratamentos (Figura 1). O tratamento 4 teve aumento de 68 e 59% em relação ao tratamento controle (T1) e à aplicação de nitrogênio (T2), respectivamente. Observa-se, também, que os micronutrientes presentes em (T5 e T6) podem ter afetado significativamente a interação microrganismos/planta.



Figural - Resposta da cultura do milho em relação ao somatório de todos os atributos avaliados e massa seca (parte área e raiz) dos tratamentos com *Azospirillum* sp. e nutrientes. Tratamentos seguidos de letras iguais, na mesma variável, não diferem entre si pelo Teste de Duncan a 5 % de significância.

A relação VR/MSR aumentou significativamente nos tratamentos com apenas o inoculante (Figura 2), mostrando que o *Azospirillum* sp. aumenta a área superficial explorada pela raízes das plantas inoculadas. Isso pode indicar que o sistema radicular se constitui de raízes mais finas, com reflexo na absorção de água e nutrientes. O maior volume de raízes pode estar associado à capacidade de *Azospirillum* sp. em sintetizar e excretar fitormônios como AIA (BASHAN et al., 2004; ROESCH et al., 2007; DOORNBOS et al., 2011).

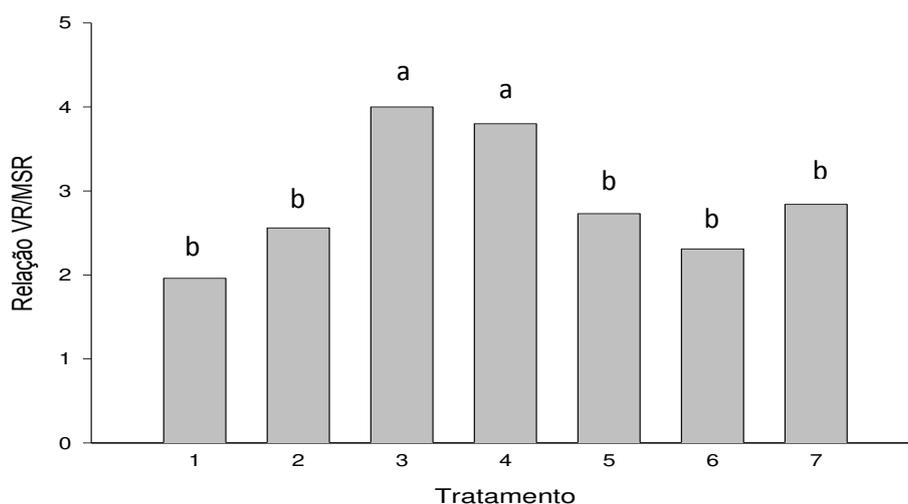


Figura 2 - Relação entre volume de raiz (VR) e massa seca de raiz (MSR) do milho inoculado com *Azospirillum* sp. e nutrientes. Os tratamentos 3 e 4 diferiram significativamente dos demais tratamentos e não diferiram entre si pelo Teste de Duncan a 5%.

#### 4.2 Experimento em campo

Para a porcentagem de emergência não houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Duncan a 5% de significância, cuja variação entre os tratamentos foi de 75 a 90%, mostrando que a inoculação com AZ não interfere na emergência.

A avaliação média do diâmetro do colmo foi realizada no estádio V<sub>5</sub> (25 dias após a semeadura) e na época da colheita de grãos, sendo observado diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 3). A inoculação com AZ afetou positivamente o diâmetro do colmo quando adicionado com nitrogênio, resultando em diferenças expressivas em relação ao tratamento T5 e T6. O diâmetro de colmo parece ser afetado pela presença de N, evidenciado pela comparação entre os tratamentos 1, 2, 3, e 4, com os tratamentos 5 e 6. Na época da colheita, observou-se a mesma resposta, sendo que o T2, T5 e T6 apresentaram menor diâmetro médio (Figura 4). Isso demonstra que o aumento do diâmetro do caule depende do nitrogênio e que aplicação com AZ sem adição de nitrogênio diminuiu significativamente o diâmetro do colmo, podendo ser argumentado que AZ pode estar competindo quanto à absorção de nutrientes com a planta, com reflexo para avaliação do diâmetro do caule.

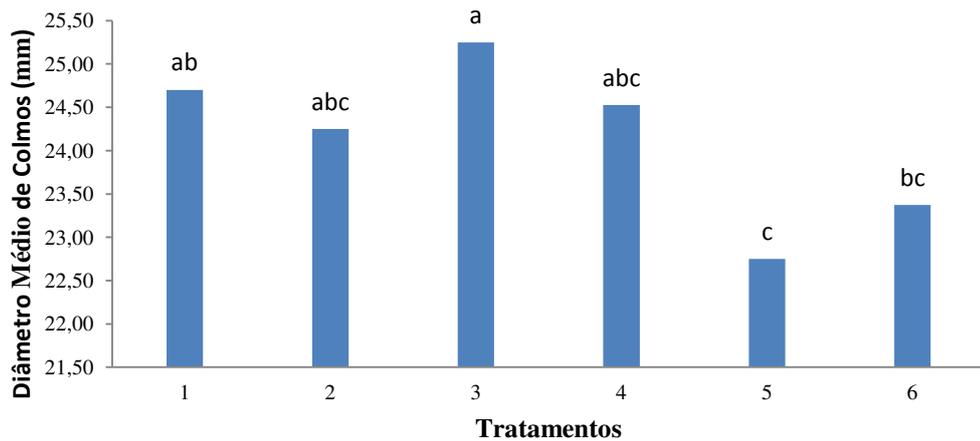


Figura 3 – Diâmetro médio de colmos de milho em estágio V<sub>5</sub> (25 dias após semeadura). Tratamentos seguidos de letras iguais não diferem entre si pelo Teste de Duncan a 5%.

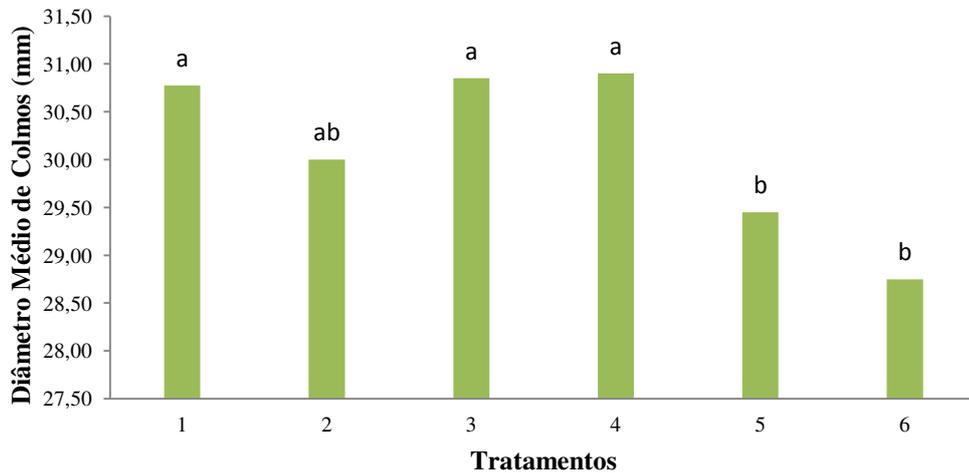


Figura 4 - Diâmetro médio de colmos de milho por ocasião da colheita de grãos. Tratamentos seguidos de letras iguais não diferem entre si pelo Teste de Duncan a 5%.

A produção média de grãos nos tratamentos com Az foi significativamente superior aos tratamentos sem a inoculação principalmente quando suplementado com N (Figura 5). O aumento com a inoculação com AZ em comparação a aplicação de nutrientes apenas, foi de aproximadamente em 20%. Resultados de pesquisa mostram que a inoculação com *Azospirillum* pode aumentar o rendimento de grãos em até 30%, a depender do híbrido e estirpe de bactéria (HUNGRIA et al., 2010).

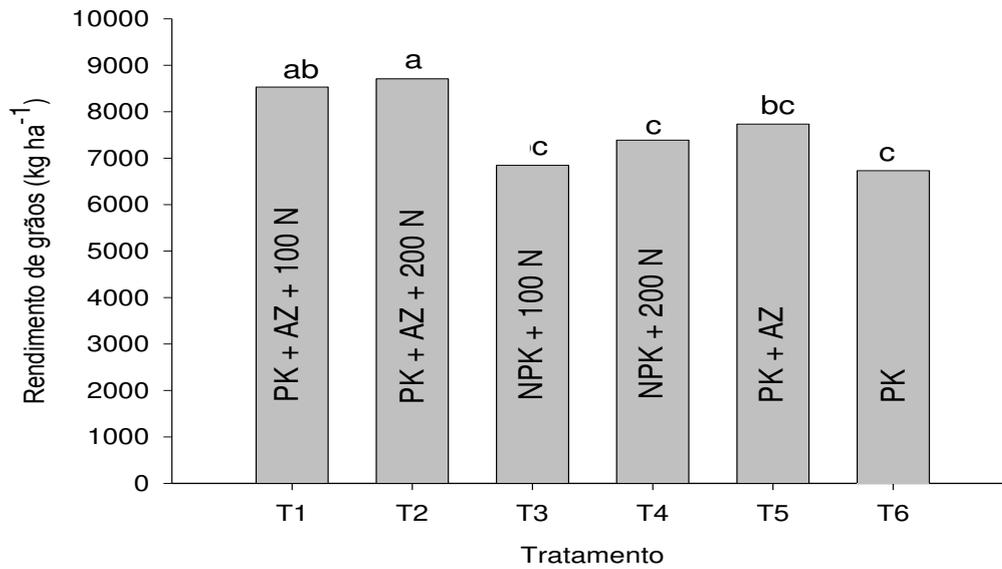


Figura 5 – Produção de grãos de milho em função da inoculação com *Azospirillum* sp. e da aplicação de nutrientes. Tratamentos seguidos de letras iguais não diferem entre si pelo Teste de Duncan a 5%.

## 5 CONCLUSÕES

Com o presente estudo foi possível verificar que a inoculação com *Azospirillum* sp. (tratamento 4 com AZ concentrado), aumentou significativamente as variáveis analisadas em casa de vegetação, tais como MFPA, MFR, VR, MSPA e MSR e que a adição de micronutrientes em casa de vegetação afetou negativamente a relação *Azospirillum/Zea mays*.

Os dados sugerem que o inoculante fornecido pela empresa Aminoagro tem efeito no aumento de área superficial do sistema radicular, medido pela VR/MSR.

A inoculação com *Azospirillum* sp. interfere positivamente no diâmetro do colmo quando suplementado com nitrogênio, além de ter aumentado em 20 % o rendimento de grãos em condições de campo quando aplicado com nutrientes.

Os resultados sugerem que AZ promove incrementos na produtividade do milho com implicações positivas no desempenho do milho nas condições de campo em Latossolo Amarelo no município de Uberlândia.

## REFERÊNCIAS

- BASHAN, Y.; HOLGUIM, G.; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.50, p. 521-577, 2004.
- BÜLL, L.T.; CANTARELLA, H. **Cultura do milho**: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: Potafos, 1993, 301 p.
- CAVALLET, L. E.; SANTOS PESSOA, A. C.; HELMICH, J. J.; HELMICH, P. R.; OST, C. F. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum brasiliense*. Campina Grande: **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 129-132, 2000.
- COMPANHIA BRASILEIRA DE ABASTECIMENTO CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira**. 2011. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11\\_10\\_11\\_14\\_19\\_05\\_boletim\\_outubro-2011.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_10_11_14_19_05_boletim_outubro-2011.pdf)>. Acesso em: 07 nov. 2011.
- CRUZ, J. C.; MONTEIRO, J. A.; SANTANA, D. P.; GARCIA, J. C.; BAHIA, F. G. F. T. C.; SANS, L. M. A.; PEREIRA FILHO, I. A.; BAHIA FILHO, A. F. C.; COELHO, A. M.; MANTOVANI, B. H. M.; CRUZ, I. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996, 204 p.
- DIDONET, A. D.; RODRIGUES, O.; KENNER, M. H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasiliense*. Brasília: **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.31, n. 9, p. 645-651, 1996.
- DOORNBOS, R.; VAN LOON, L.; BAKKER, P. Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, p. 1-17, 2011.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA EMBRAPA. **Cultivo do milho**. 2000. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/>>. Acesso em: 20 abr. 2011.
- FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. **Milho**: tecnologia e produtividade. Piracicaba: ESALQ/LPV, 2001, 259 p.

GUSMÃO, C. A. G. **Desempenho do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) de segundo ano submetido a diferentes doses e relações NPK**. 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido), Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros. 2010.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDORSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Crawley, v. 331, p. 413-425, 2010.

JORDÃO, L. T.; SARAIVA MUNIZ, A.; OLIVEIRA JUNIOR, A.; CASTRO, C.; JORDÃO, L. A. Fixação eficiente. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, n. 144, p. 16-18, maio. 2011.

MACHADO, A. T.; SODEK, L.; DOBEREINER, J.; REIS, V. M. Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com bactérias diazotróficas no comportamento bioquímico da cultivar de milho Nitroflint. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, DF, v. 33, p. 961-970, 1998.

MALVOLTA, E. **ABC da adubação**. 4. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1979. 255 p.

MOREIRA, F. M. S.; SIGUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006, 729 p.

PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G. P. **Melhoramento e produção de milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 409 p.

PELCZAR JUNIOR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R.; EDWARDS, D. D.; PELCZAR, M. F. **Microbiologia: Conceitos e aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 2009. 517 p.

REIS JUNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, v. 32, p. 1139-1146, 2008.

ROESCH, L.; QUADROS, P.; CAMARGO, F.; TRIPLETT, E. Screening of diazotrophic bacteria *Azospirillum* spp. for nitrogen fixation and auxin production in multiple field sites in southern Brazil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 23, p. 1377-1383, 2007.

YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba: International plant nutrition institute – Brasil. 2007. 722 p.