



PRODUTIVIDADE DO MILHO EM RESPOSTA À APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO E INOCULAÇÃO DAS SEMENTES COM *Azospirillum spp.*

Luiz Ermindo Cavallet¹, Antonio Carlos dos Santos Pessoa^{2,2}, Jaime José Helmich³,
Paulo Rogério Helmich³ & Charles Fabiano Ost³

RESUMO

Em experimento de campo, nas condições de plantio direto em Latossolo Vermelho eutrófico de fertilidade média a alta, foram testados para o milho (*Zea mays*, cv. G-159 S da Ciba Sementes) no período de outubro/1997 a março/1998, o aumento de produtividade de grãos, o comprimento de espiga, a altura de plantas e o número de linhas de grão por espiga, por consequência da inoculação das sementes com o produto biotecnológico comercial denominado “Graminante”, à base de *Azospirillum spp.* Os tratamentos consistiram em ausência e presença de inoculação de “Graminante”, com e sem aplicação de nitrogênio tanto, da semeadura (70 kg ha⁻¹) como em cobertura (70 kg ha⁻¹) consistindo, deste modo, numa distribuição fatorial 2 x 2 x 2, em quatro repetições. A inoculação do “Graminante” aumentou significativamente a produtividade média de grãos, de 5211 para 6067 kg ha⁻¹, ou seja, aumento de 17%, e aumentou o comprimento médio das espigas, de 13,6 para 14,4 cm; a inoculação do “Graminante” não teve efeito sobre o número de linhas de grão por espiga e altura de plantas. A aplicação de nitrogênio na semeadura e/ou em cobertura, não causou efeito sobre a produtividade do milho.

Palavras-chave: inoculação, *Zea mays*, nitrogênio, *Azospirillum spp.*

CORN PRODUCTIVITY IN RESPONSE TO NITROGEN APPLICATION AND SEED INOCULATION WITH *Azospirillum spp.*

ABSTRACT

An evaluation of corn productivity, cob length, plant height and number of corn lines on the cob as a result of nitrogen application and seed inoculation with *Azospirillum spp.* (“Graminante”) was conducted from October 1997 to March 1998. The experiment was carried out on a high fertility Oxisol using *Zea mays* L. cv. G-1595 (Ciba) under no-tillage in a 2 x 2 x 2 factorial design representing application and non-application of nitrogen at planting (70 kg ha⁻¹), application and non-application of broadcast nitrogen (70 kg ha⁻¹) and presence or absence of seed inoculation with four replications. Results showed that with seed inoculation the corn productivity increased by 17% (from 5211 to 6067 kg ha⁻¹) while corn cob length increased from 13.6 to 14.4 cm. On the other hand, no significant effects on the number of corn lines on the cob and on plant height were observed. Likewise, corn productivity was not affected by nitrogen addition either during planting or applied as broadcast.

Key words: inoculation, *Zea mays*, nitrogen, *Azospirillum spp.*

Recebido em 23/12/1998, Protocolo 151/98

¹ Professor do Departamento de Ciências Agrárias - UNIOESTE. Rua Pernambuco 1777, CEP 85960 - 000, Marechal Cândido Rondon, PR. E-mail: pessoa@unioeste.br

^{2,2} Professor do Departamento de Ciências Agrárias - UNIOESTE (in memoriam)

³ Acadêmico do Curso de Agronomia da UNIOESTE

INTRODUÇÃO

Na moderna agricultura, para se alcançar rendimentos máximos nos cultivos de cereais, como o milho, são necessárias grandes quantidades de adubo, principalmente nitrogenados. Nos últimos 20 anos foram descobertas as potencialidades das bactérias diazotróficas microaeróbias, do gênero *Azospirillum*, fixadoras de nitrogênio atmosférico, quando em vida livre (Boddey & Döbereiner, 1995) as quais, quando associadas à rizosfera das plantas podem, possivelmente, contribuir com a nutrição nitrogenada dessas plantas, o que tem despertado grande interesse por parte de pesquisadores em biologia e fertilidade do solo. A otimização dessa possível simbiose *Azospirillum* spp - Milho poderá resultar em incrementos de produtividade e em diminuição dos custos de produção, principalmente da aquisição de adubos nitrogenados (Okon & Vanderleyden, 1997) que são usados intensamente na cultura do milho.

O efeito da bactéria *Azospirillum* spp. no desenvolvimento do milho e em outras gramíneas, tem sido pesquisado nos últimos anos, não somente quanto ao rendimento das culturas mas, também, com relação às causas fisiológicas que, possivelmente, aumentam esse rendimento. Segundo Muñoz-Garcia et al. (1991) 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. Salomone & Döbereiner (1996) estudando a resposta de vários genótipos de milho à inoculação de quatro estirpes de *Azospirillum* spp. isoladas na Argentina e três de raízes de sorgo e milho isoladas no Brasil, constataram aumento de peso de grãos, variando em diferentes genótipos, da ordem de 1.700 a 7.300 kg ha⁻¹; entretanto, esses resultados são muito influenciados pelas condições de solo, ambiente e genótipos de planta.

Didonet et al. (1996) informam que são muitas as evidências de que a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasiliense* 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.

Okon & Vanderleyden (1997) baseando-se em dados acumulados durante 22 anos de pesquisa com experimentos de inoculação a campo, concluem que o gênero *Azospirillum* spp. promove ganhos em rendimento em importantes culturas nas mais variadas condições de clima e solo; contudo, salientam que o ganho com *Azospirillum* spp. vai mais além do que simples auxiliar na fixação biológica do nitrogênio, auxiliando também no aumento da superfície de absorção das raízes da planta e, conseqüentemente, no aumento do volume de substrato do solo explorado. Tal constatação é justificada pelo fato de a inoculação modificar a morfologia do sistema radicular, aumentando não apenas o número de radículas mas, também, o diâmetro da raízes laterais e adventícias. Pelo menos parte, ou talvez muitos desses efeitos de *Azospirillum* spp. nas plantas, possam ser atribuídos à produção, pela bactéria, de substâncias promotoras de crescimento, entre elas auxinas, giberilinas e citocininas, e não somente a fixação biológica de nitrogênio.

A partir dessas considerações, avaliaram-se os efeitos da inoculação do produto comercial "Graminante", à base de

Azospirillum spp na presença e ausência de adubação nitrogenada no plantio e em cobertura, sobre a produtividade e outros parâmetros de produção do milho cultivado em sistema de plantio direto na palha sob solo de média a alta fertilidade natural.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em campo, nas condições de plantio direto, no município de Toledo, PR, em um Latossolo Vermelho Eutroférico, de fertilidade média a alta, com as seguintes características: P disponível (Mehlich 1) = 51,80 mg dm⁻³, Carbono orgânico = 7,38 mg dm⁻³, pH (Ca Cl₂ 0,01M) = 6,6; H⁺ + Al⁺³ = 3,18 cmol_c dm⁻³, Ca⁺² = 9,63 cmol_c dm⁻³, Mg⁺² = 1,32 cmol_c dm⁻³, Al⁺³ = 0,0 cmol_c dm⁻³, K = 0,44 cmol_c dm⁻³, parâmetros esses determinados segundo metodologia descrita por EMBRAPA (1997).

Os tratamentos distribuídos em arranjo fatorial 2 x 2 x 2, foram: ausência e presença de inoculação do produto comercial "Graminante", à base de *Azospirillum* spp., com e sem aplicação de nitrogênio na semeadura, na dosagem de 70 kg ha⁻¹ da fonte sulfato de amônio; e com e sem aplicação de nitrogênio em cobertura, na dosagem de 70 kg ha⁻¹ da fonte uréia, metade aplicada aos 20 e metade aos 40 dias após o plantio. O delineamento foi blocos ao acaso, com quatro repetições, e as parcelas foram constituídas de quatro linhas de milho com 4 m de comprimento e espaçadas em 1 m.

O plantio foi realizado em 28/10/97, usando-se sementes de milho (cv. G-159 S) da Ciba Sementes. Os tratamentos com inoculação receberam 100 g do produto comercial "Graminante" por saca de 20 kg de sementes. O manejo da cultura e a adubação uniforme de K e P, na dosagem de 40 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 40 kg ha⁻¹ de K₂O em todos os tratamentos, foram feitos segundo a análise de solo e recomendação oficial do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR, 1991).

Aos noventa dias após o plantio mediu-se a altura de plantas, tomando-se como base a distância da superfície do solo até a extremidade do pendão. Exatamente após cinco meses do plantio (28/03/98) as plantas foram colhidas e, como área útil para estimativa da produção, tomaram-se as duas linhas centrais, eliminando 0,5 m nas extremidades. De todas as espigas de cada parcela, foi retirada a palha e contado, individualmente, o número de fileiras de grão, obtendo-se o valor médio. Posteriormente, e da mesma forma mediu-se, em todas as espigas, a distância entre o primeiro e o último grão da linha mais longa, obtendo-se assim o valor médio do comprimento de espiga. Todas as espigas de cada parcela foram debulhadas com um equipamento de uso manual para a determinação dos dados de produção, os quais foram transformados em kg ha⁻¹.

Os dados obtidos foram avaliados por análise de variância (Teste F) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Tukey a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não ocorreu interação significativa (p > 0,05) entre os tratamentos de adubação nitrogenada na base e em cobertura nem entre adubação nitrogenada com inoculação do "Graminante".

Observa-se que, onde não houve aplicação de adubação nitrogenada, a inoculação das sementes com o produto comercial “Graminante” aumentou a produtividade em 357 kg ha⁻¹; no entanto, esse aumento não foi estatisticamente significativo (p > 0,05). A testemunha não inoculada teve produção de 5112 kg ha⁻¹; por outro lado, com a inoculação a produção foi de 5469 kg ha⁻¹; já nos tratamentos com inoculação e aplicação de adubação nitrogenada, tanto em cobertura como na base, verificou-se produção de 6404 kg ha⁻¹ e, nestas condições, onde não houve a inoculação a produção foi de 5500 kg.ha⁻¹; assim com melhor disponibilidade de nitrogênio a inoculação das sementes com “Graminante” aumentou a produção em 30% (Tabela 1). Resultados similares de aumento de produção com o uso de *Azospirillum* também são relatados por Dinonet et al. (1996) principalmente na presença de adubação nitrogenada; indicando que a associação *Azospirillum*-Milho usa mais eficientemente o nitrogênio mineral aplicado ao solo.

Tabela 1. Produtividade de grãos de milho (kg ha⁻¹) em resposta à inoculação das sementes com produto comercial “Graminante”, à base de *Azospirillum spp.*, adubação nitrogenada na semeadura e em cobertura

N da Semeadura	N em Cobertura	- GRA*	+ GRA	Média**	Aumento Relativo (%)
-	-	5112	5469	5290 a	7
-	+	4806	6232	5519 a	30
+	-	5429	6165	5797 a	14
+	+	5500	6404	5952 a	16
Média		5211 B	6067 A	5639	17
CV (%)				13,99	

* GRA = inoculação de “Graminante” na dosagem comercial. Os sinais + e - significam, respectivamente, presença e ausência do tratamento
 ** Médias seguidas pelas letras diferentes, minúsculas para efeito da adubação nitrogenada na coluna e maiúsculas para efeito da inoculação de graminante na linha, diferem significativamente pelo teste Tukey, a 5%

Nos tratamentos em que foi inoculado o “Graminante”, a produtividade média de milho foi de 6067 kg ha⁻¹ e, onde não foi inoculado, foram produzidos 5211 kg ha⁻¹ obtendo-se, portanto, aumento significativo da produtividade, na ordem de 17%, por consequência da inoculação do produto “Graminante” contendo *Azospirillum spp.* (Tabela 1). Salomone & Döbereiner (1996) e Okon & Vanderleyden (1997) também encontraram aumentos de produtividade com a inoculação de *Azospirillum spp.* nas mais diversas condições de cultivo oriundos, provavelmente, dos efeitos benéficos dessas bactérias na fixação biológica de nitrogênio (Okon & Vanderleyden, 1997) no aumento da atividade das enzimas fotossintéticas e de assimilação de nitrogênio (Didonet et al., 1996), no aumento da superfície de absorção das raízes e na produção de substâncias promotoras do crescimento (Salomone & Döbereiner, 1996); entretanto, nem sempre são obtidas respostas positivas de aumento de produção com a inoculação das sementes com “Graminante”, conforme relatam Campos et al. (1999) para as culturas de trigo e aveia.

O comprimento de espigas de milho foi influenciado com a inoculação do “Graminante”. A média dos tratamentos onde houve a inoculação foi de 14,4 cm, significativamente diferente da média dos tratamentos em que não ocorreu inoculação, que atingiu 13,6 cm (Tabela 2). O crescimento significativo no comprimento de espigas em 6% nos tratamentos onde foi

inoculado o “Graminante”, refletiu em maior produção de grão por espiga. Dos componentes de produção avaliados, apenas o comprimento de espiga mostrou correlação positiva e significativa (0,84**) com a produtividade (Tabela 3).

Tabela 2. Comprimento de espigas de milho (cm) em resposta à inoculação das sementes com produto comercial “Graminante”, à base de *Azospirillum spp.*, adubação nitrogenada na semeadura e em cobertura

N da Semeadura	N em Cobertura	- GRA*	+ GRA	Média**	Aumento Relativo (%)
-	-	13,2	13,8	13,5	5
-	+	13,6	14,8	14,2	9
+	-	13,9	14,3	13,6	3
+	+	13,6	14,7	13,7	8
Média		13,6 B	14,4 A	14,0	6
CV (%)				6,08	

* GRA = inoculação de “Graminante” na dosagem comercial. Os sinais + e - significam, respectivamente, presença e ausência do tratamento
 ** Teste F não significativo

Tabela 3. Estimativa dos coeficientes de correlação linear entre a produtividade de grãos de milho com as variáveis altura de plantas, comprimento de espiga e número de linhas de grão por espigas

Variável	Produtividade (kg ha ⁻¹)	Altura de Planta (cm)	Comprimento de Espigas (cm)	Fileiras/Espiga
Produtividade	-	- 0,16 ^{ns}	0,84 ^{**}	0,39 ^{ns}
Altura de Plantas	- 0,16 ^{ns}	-	- 0,20 ^{ns}	- 0,36 [*]
Comprimento de Espigas	0,84	- 0,20 ^{ns}	-	0,34 [*]
Fileiras/Espigas	0,39 ^{ns}	- 0,36	0,34 [*]	-

*, ** Significativo a 5 e a 1%, respectivamente
^{ns} Não significativo

Apesar de o inoculante “Graminante” aumentar a produtividade de grão e o comprimento de espiga, não alterou a altura de plantas (p > 0,05) que apresentou média de 221 cm, o que é importante, pois anula o efeito negativo ligado a tombamento de plantas; por outro lado, observa-se, ainda na Tabela 3, que a altura de plantas não teve correlação significativa com a produtividade de grãos.

O número de linhas de grão por espiga apresentou valor médio de 14 e aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com “Graminante” não mostram efeitos significativos (p > 0,05).

Entre os aspectos que devem merecer atenção dos pesquisadores, ressalta-se a seleção de estirpes adaptadas às condições locais e às culturas e cultivares usadas em cada região, sendo necessário testar-se as estirpes de *Azospirillum*, selecionando-se aquelas mais adaptadas às situações de clima e do manejo de culturas, para possível recomendação em um produto comercial.

Por suas características intrínsecas o produto testado não oferece, possivelmente, riscos ao meio ambiente ou à saúde humana, como o uso intenso de adubos nitrogenados; no entanto, e em função do fato de que o efeito de *Azospirillum spp.* na cultura do milho e em outras culturas seja variável, conforme observaram Muñoz-Garcia et al. (1991), Salomone & Döbereiner (1996), Okon & Vanderleyden (1997) e Campos et al. (1999) nem sempre proporcionando resultados positivos em produtividade, seria interessante que fossem realizados outros

experimentos com o uso desse produto comercial, contendo *Azospirillum spp.* nas mais diversas condições de cultivo e solo, para uma futura recomendação de uso na agricultura.

Uma das vantagens verificadas no “Graminante” é a sua formulação, veículo a seco, o qual facilita a aplicação nas sementes associado, talvez, a estirpes de comprovada eficiência, o que permitirá boa aceitação pelos agricultores.

CONCLUSÕES

1. A inoculação do produto comercial “Graminante”, à base de *Azospirillum spp.* causou aumento significativo na produtividade de grãos de milho, de 5211 kg ha⁻¹ para 6067 kg ha⁻¹, ou seja, aumento médio de 17%.

2. A inoculação do produto comercial “Graminante” aumentou o comprimento médio das espigas de milho, de 13,6 para 14,4 cm, ou seja, aumento médio de 6%.

3. A inoculação do produto comercial “Graminante” não teve efeito sobre a altura de plantas nem sobre o número de fileiras de grão por espiga.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BODDEY, R.M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent progress and perspectives for the future. *Fertilizer Research*, Oxford, v.42, p.241-250, 1995.
- CAMPOS, B.H.C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. Inoculante “Graminante” nas culturas de trigo e aveia. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.23, n.3, p.401-407, 1999.
- DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O; KENNER, M.H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasiliense*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.16, n.9, p.645-651, 1996.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solos. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPQ, 1997, 212p.
- IAPAR. A cultura do milho no Paraná. Londrina: IAPAR, 1991, 270p.
- MUÑOZ-GARCIA, A.; CABALLERO-MELLADO, J.; VALDÉS, M. Promoción del crecimiento del maíz por cepas productoras de siderófos de *Azospirillum* y *Pseudomonas* fluorescentes. In: CONGRESO NACIONAL DE LA FIJACION BIOLÓGICA DEL NITROGENO Y I ENCUESTRO IBEROAMERICANO DE INVESTIGACION SOBRE FIJACION DE NITROGENO, 3., 1991. Cuernavaca. Anais... Cuernavaca, México, p.61. 1991.
- OKON, Y.; GONZALEZ-LABANDERA, C.A. Agronomic applications of *Azospirillum*. In: RYDER, M.H.; STEPHENS, G.D. (Eds.). Improving plant productivity with rhizosphere bacteria. CSIRO – Division of Soils, Australia. 1994, p.274-278.
- OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants, *Applied and Environmental Microbiology*, New York, v.63, n.7, p.366-370, 1997.
- SALOMONE, G.; DÖBEREINER, J. Maize genotypes effects on the response to *Azospirillum* inoculation. *Biology Fertilizer Soils*, Oxford, v.21, p.193-196, 1996.