

INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO SAFRINHA COM *Azospirillum* E APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO EM COBERTURA

ALESSANDRO GUERRA DA SILVA¹, AILDSON PEREIRA DUARTE², RITA DE CÁSSIA
PIEIDADE³, HEWERTON PIRES COSTA¹, KLERYSTON GUIMARÃES CASTRO
MEIRELES¹ E LARISSA PACHECO BORGES⁴

¹Universidade de Rio Verde, Rio Verde, GO, Brasil - silvaag@yahoo.com.br; hewerton_costa@hotmail.com,
klerystonagronomo@gmail.com

²Instituto Agrônomo (IAC), Campinas, SP, Brasil - aildson@apta.sp.gov.br

³Fundag/Programa Milho e Sorgo IAC/APTA, Apta Regional do Médio Paranapanema, Assis, SP, Brasil -
ritapieidade@yahoo.com.br

⁴Instituto Federal Goiano, Campus de Rio Verde, Rio Verde, GO, Brasil - larissa.pb@hotmail.com

Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.14, n.3, p. 358-370, 2015

RESUMO – A resposta do milho safrinha a adubação nitrogenada depende das condições ambientais e a inoculação das sementes do milho com *Azospirillum* pode contribuir para o fornecimento de nitrogênio e o desenvolvimento das plantas. No entanto, são escassos os resultados que comprovam que a inoculação das sementes substitui parcialmente a adubação nitrogenada. Portanto, objetivou-se avaliar a resposta do milho safrinha a inoculação de sementes com *Azospirillum* e a aplicação de nitrogênio em cobertura. Foram implantados dois ensaios em Montividiu, GO em 2011 e 2012. Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados com seis repetições. Em 2011, foi empregado o esquema fatorial 2x4 (sem e com inoculação de *A. brasilense* e quatro doses de nitrogênio em cobertura) e, em 2012, o esquema fatorial 5x4 (cinco tratamentos de inoculação com *A. brasilense* e quatro doses de nitrogênio em cobertura). Em 2011, houve resposta ao nitrogênio apenas para as variáveis altura de inserção de espiga e nitrogênio foliar e interação inoculante x doses de nitrogênio para altura de inserção de espiga. Em 2012, a inoculação e a adubação em cobertura proporcionaram maiores rendimentos de grãos e altura de plantas e a inoculação aumentou o vigor, as alturas da planta e da inserção da espiga e o rendimento de grãos da cultura, sem interação entre estes dois fatores.

Palavras-chave: adubação, inoculante, *Zea mays*.

SEED INOCULATION IN OFF-SEASON MAIZE WITH *Azospirillum* AND NITROGEN TOPDRESSING APPLICATION

ABSTRACT – The response of off-season maize to the nitrogen fertilization depends on the environmental conditions and the inoculation of corn seeds with *Azospirillum* can contribute to the supply of nitrogen and development of plants. However, there are few results to demonstrate that the seed inoculation replaces partially the nitrogen fertilization. Thus, the present study aimed to evaluate the response of off-season maize to seed inoculation with *Azospirillum* and the topdress nitrogen application. Two experiments were accomplished at Montividiu-GO in 2011 and 2012. A randomized block design was used, with six replications. The 2x4 factorial design was used in 2011 (with and without inoculation of *A. brasilense* and four doses of topdressed nitrogen) and the 5x4 factorial scheme in 2012 (five treatments of inoculation with *A. brasilense* and four doses of topdressed nitrogen). In 2011, the response to nitrogen was only observed for ear insertion height and leaf nitrogen, and for the interaction inoculant x nitrogen levels to ear insertion height. In 2012, inoculation and topdress fertilization provided the highest grain yield and plant height, and inoculation increased the vigor, plant height, ear height and crop yield without interaction between these two factors.

Key words: fertilizer, inoculant, *Zea mays*.

A crescente demanda por fertilizantes nitrogenados e a preocupação com possíveis perdas e contaminação do ambiente impulsionam a busca pela maior eficiência da aplicação de nitrogênio em cobertura na cultura do milho, como também por alternativas de suprimento de nitrogênio via fixação biológica à cultura (Yan et al., 2014) e aumento de eficiência na utilização de insumos nas áreas de produção agrícola (Xu et al., 2012).

O cultivo de milho safrinha se destaca como principal modalidade de cultivo nos estados do Centro-Oeste do Brasil. Porém, o rendimento de grãos tem sido limitado pela ocorrência de deficiências hídricas nos estádios avançados de desenvolvimento da cultura, o que tem limitado a absorção de nutrientes. Neste contexto, o nitrogênio assume grande importância, pois é um dos principais nutrientes que limitam o aumento do rendimento do milho, sendo constituinte essencial de vários compostos em plantas, como aminoácidos, ácidos nucleicos e clorofila (Quezada et al., 2015). Na maioria dos solos brasileiros, o nitrogênio é encontrado em quantidades insuficientes para atender a demanda das culturas (Goedert, 1983), necessitando efetuar a fertilização em doses adequadas para garantir o desenvolvimento e o rendimento do milho (Duarte, 2013).

Resultados de pesquisas comprovam que o uso de 30 a 40 kg ha⁻¹ de nitrogênio na semeadura proporciona respostas satisfatórias no milho safrinha com potencial de até 6.000 kg ha⁻¹ cultivado em sucessão a soja (Cantarella & Duarte, 1997; Duarte, 2013). No estado de Goiás, rendimentos de milho safrinha acima de 6 t ha⁻¹ têm demandado a complementação do nitrogênio em cobertura (Cantarella & Duarte, 1997). A ocorrência de chuvas em semeaduras antecipadas do milho safrinha cultivado no Centro-Oeste aumenta as chances de perdas de nitrogênio por lixiviação, o que conduz ao parcelamento da adubação.

A fixação biológica de nitrogênio atmosférico tem sido uma prática de grande interesse por se tratar de um processo biológico que ocorre na natureza. Ela é realizada por um grupo restrito de bactérias, denominadas diazotróficas (Döbereiner et al., 1995). Dentre elas, as bactérias do gênero *Azospirillum*, principalmente a espécie *A. brasilense*, têm sido utilizadas como inoculante em diversas culturas, tais como em cereais, algodão, trigo, aveia, cana-de-açúcar, café e braquiárias e recentemente na cultura do milho, proporcionando resultados positivos (Döbereiner et al., 1995; Campos et al., 1999; Ferreira et al., 2013).

Sabe-se que existem interações entre o nitrogênio e as bactérias diazotróficas na assimilação e na utilização desse nutriente pelas plantas. O gênero *Azospirillum* pode atuar no crescimento vegetativo por meio da redução do nitrato nas raízes das plantas (Döbereiner et al., 1995). Desse modo, as plantas não gastariam energia para reduzir o nitrato a amônia e essa energia poderia ser destinada a outros processos metabólicos da planta. Elas também produzem substâncias promotoras de desenvolvimento, como auxinas, giberelinas e citocininas, as quais proporcionam maior crescimento radicular (Bashan & De-Bashan, 2010) e, por consequência, maior absorção de água e nutrientes, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (Hungria et al., 2010).

A inoculação das sementes com *Azospirillum* pode ser uma alternativa para complementar o fornecimento de nitrogênio para a cultura do milho (Araújo et al., 2015). O conhecimento desta interação pode constituir estratégia importante no que se refere a redução de aplicação de fertilizantes nitrogenados e nos custos de produção, além da menor contaminação do lençol freático por compostos nitrogenados (Bashan & De-Bashan, 2010; Hungria et al., 2010).

Para tanto, é necessária a seleção de estirpes adaptadas às condições edafoclimáticas e ao sistema de manejo regionais (Hungria et al., 2010) para uso na cultura do milho. Atualmente, são recomendadas amplamente as estirpes abv 5 e abv 6, quase sempre associadas ao mesmo inoculante, ambas desenvolvidas pela Embrapa e pela Universidade Federal do Paraná, e a BR 11005 (SP 245), desenvolvida também pela Embrapa.

Trabalhos de adubação nitrogenada associada a inoculação com *Azospirillum* no milho safrinha são escassos, havendo necessidade de estudos para comprovar o efeito desta técnica na redução da demanda por fertilizantes nitrogenados. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta do milho safrinha a inoculação de sementes com *Azospirillum* e aplicação de nitrogênio em cobertura.

Material e Métodos

Os ensaios foram conduzidos de fevereiro a julho de 2011 e 2012 em Montividiu, GO (altitude

de 870 m), após colheita da soja em solo cultivado no sistema de plantio direto por 15 anos, sendo classificado como Latossolo Vermelho-amarelo de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Santos et al., 2013). Os resultados da análise da amostra do solo da área experimental nas profundidades de 0,0 a 0,2 m em 2011 e 2012 foram, respectivamente: pH em CaCl_2 5,4 e 4,6; matéria orgânica 42,0 e 34,6 g dm^{-3} ; P 12,0 e 3,8 em mg dm^{-3} (método da resina e Mehlich, respectivamente); Ca 32 e 18; Mg 11 e 4; K 1,6 e 1,0; H+Al 34 e 52; SB 44,6 e 23,0; CTC 78,6 e 75,0 em mmolc dm^{-3} ; v 57 e 31%.

O clima da região é do tipo Aw, que, segundo a classificação de Köppen, é caracterizado por ser tropical úmido, com verão chuvoso e inverno seco, duas estações bem definidas: a chuvosa, de outubro a abril; e a seca, compreendida de maio a setembro. Os dados climáticos durante a condução dos ensaios estão apresentados na Figura 1.

Nos dois anos, utilizou-se o delineamento de blocos casualizados com seis repetições. As parcelas eram compostas de seis linhas de 6,0 m de compri-

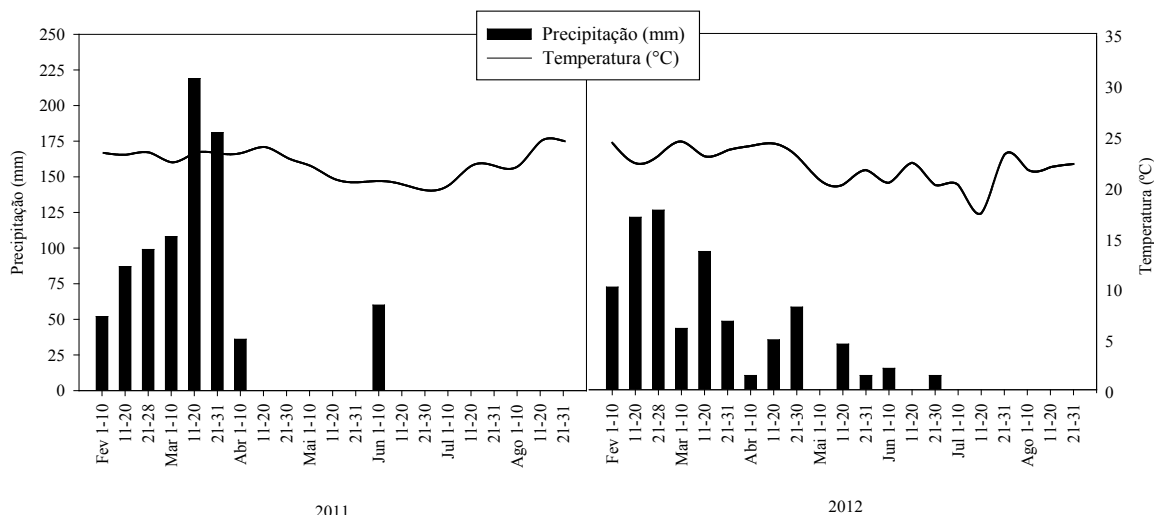


FIGURA 1. Dados mensais de precipitação pluvial e temperatura durante a condução dos experimentos. Montividiu, GO, 2011 e 2012.

Fonte: Estação Meteorológica da UniRV - Universidade de Rio Verde, em Rio Verde, GO.

mento, espaçadas de 0,76 m. As duas linhas centrais foram consideradas como área útil, desconsiderando 0,5 m das extremidades.

Na safrinha de 2011, foi empregado o esquema fatorial 2x4 correspondendo a inoculação com *Azospirillum brasilense* (sem e com inoculação - Masterfix Gramíneas: 0,1 L 20 kg sementes⁻¹) associada a quatro doses de nitrogênio (0, 30, 60 e 90 kg ha⁻¹) aplicadas em cobertura na forma de nitrato de amônio, ao lado da linha semeadura, no estágio de seis a sete folhas desenvolvidas das plantas de milho (30 dias após a emergência-DAE).

Em 2012, adotou-se o esquema fatorial 5x4, correspondendo a cinco tratamentos de inoculação com *Azospirillum brasilense*, segundo recomendação de cada fabricante (1- sem inoculação; 2- Masterfix Gramíneas (estirpes abv5 e abv6 na dose 0,1 L ha⁻¹, considerando-se 60.0000 sementes); 3- Azototal (estirpes abv5 e abv6 na dose de 0,1 L 25 kg⁻¹ sementes); 4- Biomax Premium (estirpe abv5 na dose de 0,150 L 20 kg de sementes⁻¹); e 5- Gelfix (estirpe BR 11005 - SP 245 na dose de 0,1 L ha⁻¹ - 60.000 sementes) associadas a quatro doses de nitrogênio (0, 30, 60 e 90 kg ha⁻¹) aplicadas em cobertura na forma de nitrato de amônio, ao lado da linha de semeadura, no estágio de quatro a cinco folhas desenvolvidas do milho (27 DAE). Os inoculantes foram produzidos no mesmo mês de instalação do ensaio, com garantia mínima de 2×10^8 células viáveis mL⁻¹.

A inoculação das sementes foi realizada no dia da semeadura. Esta operação ocorreu em 11 e 29 de fevereiro de 2011 e 2012, respectivamente, com uso de semeadora com deposição das sementes a 4 cm de profundidade. A emergência das plântulas, em ambos os anos, ocorreu cinco dias após a semeadura. Foram empregados, respectivamente, os híbridos simples transgênicos DKB 390 YG e DKB 390 PRO.

A adubação foi realizada um dia antes da semeadura, a lanço, com uso de 270 kg ha⁻¹ dos fertilizantes 08-20-18 e 200 kg do 07-20-18 nas safrinhas de 2011 e 2012, respectivamente, segundo exigências da cultura (Sousa & Lobato, 2004). No segundo ano agrícola, as sementes foram tratadas com tiametoxam (0,12 L 60.000 sementes⁻¹) com o intuito de prevenir danos por percevejos na fase inicial de desenvolvimento das plântulas de milho. Em ambos os anos, os tratamentos foram mantidos sem danos de plantas daninhas, pragas e doenças por meio de aplicações de herbicidas, inseticidas e fungicidas, respectivamente.

Por ocasião da adubação de cobertura, em ambos os anos foram avaliados na área útil das parcelas o vigor das plantas, levando-se em consideração a altura das plantas, a área do dossel vegetativo e a intensidade da coloração verde das folhas (por meio de escala de notas comparativas de 1 a 5, aplicada por três avaliadores, em relação à testemunha, sendo 1: muito inferior; 2: inferior; 3: igual; 4: superior; e 5: muito superior), a população inicial (contagem do número de plantas) e a altura de plantas (medição do colo até a curvatura da última folha desenvolvida). Coletaram-se dez folhas da espiga principal por parcela no estágio de pleno florescimento. As amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 55 °C e enviadas para análise de nitrogênio em laboratório, de acordo com o método descrito por Bataglia et al. (1978).

As colheitas foram realizadas em 23 de julho (162 DAE) e 1º de agosto (154 DAE) de 2011 e 2012, respectivamente. Na colheita, avaliaram-se o rendimento de grãos com correção da umidade para 13%, a população final e alturas de plantas e de inserção de espiga (medição do colo até a extremidade do pendão e da espiga, respectivamente, em dez plantas). No segundo ano, avaliaram-se ainda a massa de mil grãos

com umidade corrigida para 13% e o rendimento relativo de grãos na espiga (relação do peso de grãos pelo peso total da espiga) para verificar possíveis efeitos dos tratamentos na formação dos grãos.

Procedeu-se a análise de variância dos resultados ao nível de 5% de probabilidade. Os tratamentos referentes a inoculação foram comparados por contrastes ortogonais, de acordo com as estirpes de *Azospirillum*, e as doses de nitrogênio por regressão polinomial.

Resultados e Discussão

Na condução dos ensaios, as condições climáticas foram favoráveis para o desenvolvimento da cultura do milho (Figura 1), especialmente até a fase de floração. Pode-se observar que a precipitação pluvial decresceu no decorrer dos meses, especialmente no final estágio de enchimento de grãos, o que é comum na safrinha na região Centro-Oeste. É oportuno destacar que, em 2012, as chuvas se estenderam até o final de junho, com distribuição mais regular em comparação a 2011, visto que neste ano, após o mês de março, foi registrada precipitação somente nos primeiros decêndios de abril e junho. Portanto, o maior período chuvoso registrado na safrinha de 2012 compensou o atraso de 18 dias de semeadura do milho em relação a 2011, mesmo tendo sido implantado em área de menor fertilidade. Estas condições permitiram obter rendimentos de grãos acima de 8,1 t ha⁻¹ em ambos os anos (Tabelas 1 e 2).

Em 2011, não houve efeitos da aplicação do inoculante com *A. brasilense* em nenhuma das características avaliadas. A diminuição expressiva da precipitação a partir do mês de abril pode ter contribuído para a ausência de efeito da inoculação. Mas tem sido observado que deficiências hídricas moderadas antes

do florescimento favorecem a expressão do efeito da inoculação na produtividade de grãos do milho (Dias-Zorita, 2012). As diferentes doses de nitrogênio apresentaram resultados significativos somente para altura de inserção de espiga e nitrogênio foliar. A interação inoculante x doses de nitrogênio foi significativa apenas para altura de inserção de espiga (Tabela 1). As maiores alturas de inserção de espigas foram observadas na dose de nitrogênio de aproximadamente 50 kg ha⁻¹ (Figura 2).

A ausência de efeitos da inoculação e das doses de nitrogênio em cobertura para o rendimento de grãos em 2011 é coerente com a não significância para as demais variáveis testadas (população, vigor e altura de plantas inicial) (Tabela 1). O fornecimento de 21,6 kg ha⁻¹ de nitrogênio pelo fertilizante na semeadura e a decomposição da palhada da soja, que apresentou rendimento de 3,3 t ha⁻¹ de grãos, contribuíram para atender a demanda de nitrogênio do milho safrinha, como destacado por Duarte (2013). Acrescenta-se ainda que a cobertura foi realizada no início de abril, mês que registrou apenas 36 mm de chuva. Mas o efeito do estresse hídrico não foi acentuado, pois a cultura produziu 8,4 t ha⁻¹ de grãos. Ao mesmo tempo, não devem ter ocorrido perdas do nitrogênio por lixiviação do nitrato por excedentes hídricos.

A ausência de resposta do rendimento de grãos a inoculação com *Azospirillum brasilense* também foi constatada por Campos et al. (2000) em milho e por Campos et al. (1999) para as culturas de trigo e aveia. Por outro lado, Costa et al. (2015) observaram acréscimos no rendimento e peso de mil grãos, além do acúmulo de biomassa na parte aérea e raiz, com inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*, estirpes abv5 e abv6, no cultivo de milho safrinha em condições de Cerrado. Destaca-se que a resposta de espécies de gramíneas a inoculação com produtos

TABELA 1. Rendimento de grãos (RG), população (POP), alturas de planta (AP) e de inserção de espiga (AE) na colheita, vigor (VIG), população (POP(I)) e altura de plantas (AP(I)) na fase inicial de desenvolvimento e nitrogênio foliar (NF) e análise de variância do ensaio de inoculação de sementes de milho com *Azospirillum* e doses de nitrogênio em cobertura, Montividiu, GO, 2011.

Inoculação	RG (kg ha ⁻¹)	POP (pls ha ⁻¹)	AP (m)	VIG (1 a 5)	POP(I) (plantas ha ⁻¹)	AP(I) (m)	NF (g kg ⁻¹)	
Controle (C)	8.398	61.075	2,07	3,0	63.941	1,21	24,0	
Inoculante (I)	8.389	61.842	2,09	3,5	66.729	1,15	23,8	
Doses N (kg ha ⁻¹)								
0	8.163	61.513	2,05	-	-	-	23,2	
30	8.430	61.623	2,07	-	-	-	22,8	
60	8.565	61.294	2,10	-	-	-	24,5	
90	8.416	61.404	2,10	-	-	-	25,0	
Análise de variância								
	RG	POP	AP	AE	VIG	POP(I)	AP(I)	NF
Inoculante (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	*	-	-	-	**
Linear	ns	ns	ns	ns	-	-	-	**
Quadrático	ns	ns	ns	**	-	-	-	ns
I x N	ns	ns	ns	*	-	-	-	ns
C.V. (%)	5,3	4,9	3,1	5,8	13,8	3,8	6,4	6,5

** , * , ns: significativo a 1 e 5% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

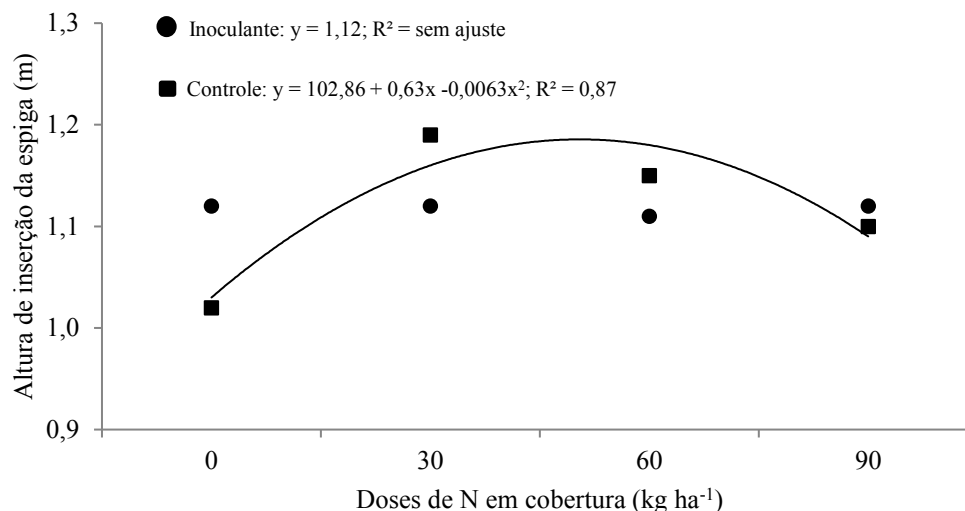


FIGURA 2. Altura de inserção de espiga de milho safrinha em 2011 em função da inoculação de sementes com *Azospirillum* e doses de nitrogênio em cobertura em Montividiu, GO.

que contêm bactérias na sua composição pode ser influenciada pelas características genéticas das plantas e das estirpes, bem como pelas condições do ambiente (Hungria et al., 2010; Mehnaz et al., 2010).

O aumento das doses de nitrogênio em cobertura no milho aumentou, linearmente, a quantidade de nitrogênio foliar em 2011 (Figura 3), como destacado por Araújo et al. (2015). No entanto, o uso de inoculante não aumentou a quantidade de nitrogênio foliar, não sendo constatada ainda interação entre doses de nitrogênio e inoculação (Tabela 1). Neste ambiente, a disponibilidade de nitrogênio no solo não foi o fator limitante para aumentos no rendimento de grãos, sem ganhos devido ao aumento do nitrogênio foliar com a adubação nitrogenada.

Na safrinha de 2012, não houve interação significativa entre inoculação e doses de nitrogênio, sendo observados efeitos isolados para rendimento de grãos, população de plantas e altura de plantas e de inserção de espiga e nitrogênio foliar (Tabela 2). Corroborando, Repke et al. (2013) também não encontraram a referida interação e concluíram que o uso de *Azospirillum brasilense*, via solução nas sementes, não substitui o uso de fertilizantes nitrogenados e tampouco permite a redução da dose para obter maior rendimento de grãos de milho.

Efeitos significativos foram evidenciados nas variáveis de rendimento de grãos, altura da planta e nitrogênio foliar com a aplicação do nitrogênio em cobertura. Assim, constatou-se diferença significativa entre os inoculantes e o tratamento controle (sem inoculação) para rendimento de grãos, altura de plantas e de espigas. No entanto, não houve diferença entre os inoculantes para o rendimento de grãos, sendo observados efeitos apenas para altura de plantas, com superioridade do tratamento Biomax Premium em relação aos inoculantes Masterfix e Azototal.

A variabilidade de resultados entre anos e inoculantes poder ser atribuída, em parte, às condições edafoclimáticas, visto que o mesmo inoculante (Masterfix) teve efeito no rendimento de grãos apenas no ano de 2012. Outro fator é a própria dose e formulação dos inoculantes, que é de domínio do fabricante, não se restringindo apenas a diferença das estirpes de *A. brasilense*. Ao utilizar as doses recomendadas pelas empresas, foram aplicados apenas 100 mL por 25 kg de sementes de Azototal, enquanto nos demais aproximadamente 100 mL por 60.000 sementes. Convém ressaltar que os produtos utilizados no ensaio eram recém-fabricados. Porém, os mesmos podem apresentar diferenças quanto a concentração de células especificada na garantia, que é a mínima aos seis meses após a fabricação.

Embora aumentos no rendimento de grãos de milho de 29% com o uso de *Azospirillum* em associação com nitrogênio em cobertura, em comparação ao uso do fertilizante sem inoculação, tenham sido relatados para as culturas de milho em condições controladas (Ferreira et al., 2013) e de trigo (Hungria et al., 2010), no presente trabalho a inoculação com Biomax Premium aumentou o rendimento de grãos em 4,3% em comparação com a testemunha (Tabela 2).

A aplicação de nitrogênio em cobertura também foi eficiente em aumentar o rendimento de grãos do milho em 2012 (Tabela 2). Neste ano, em comparação a 2011, o solo onde foi implantado o ensaio era mais ácido, o que pode ter influenciado negativamente o desenvolvimento do sistema radicular. Além disto, as chuvas foram mais frequentes e distribuídas nos meses de abril, maio e junho, que associadas ao menor desenvolvimento do milho, em função da época de semeadura mais tardia em relação à safrinha de 2011, podem ter acarretado alguma perda de nitrato por lixiviação. Os ganhos de produtividade da adu-

TABELA 2. Rendimento (RG) e peso de mil grãos (PMG), rendimento de espiga (RE), população de plantas (POP), alturas de plantas (AP) e de espiga (AE), nitrogênio foliar (NF) e análise de variância do ensaio de inoculação de sementes de milho com *Azospirillum* e doses de nitrogênio em cobertura, Montividiu, GO, 2012.

Tratamentos	RG (kg ha ⁻¹)	MMG (g)	RE (%)	POP (plantas ha ⁻¹)	AP --- (m) ---	AE	NF (g kg ⁻¹)
Inoculação							
Controle	8.487	312	77	63.706	228	131	25,8
Masterfix	8.650	311	77	63.487	234	135	25,7
Azototal	8.713	314	76	64.583	230	134	25,9
Biomax Premium	8.856	301	77	66.612	236	136	26,6
Gelfix	8.815	321	76	64.200	237	137	25,2
Nitrogênio (Kg ha⁻¹)							
0	8.407	303	76	65.132	232	134	24,8
30	8.516	312	76	64.254	230	136	25,4
60	8.948	322	77	64.781	235	134	26,8
90	8.946	311	76	63.904	235	135	26,3
Análise de variância							
Inoculação (I)	*	ns	ns	**	**	*	ns
Controle x Inoculantes	**	ns	ns	ns	**	**	ns
Gelfix x Demais inoculantes	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
Biomax x (Masterfix+Azototal)	ns	ns	ns	**	*	ns	ns
Masterfix x Azototal	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
Nitrogênio (N)	**	ns	ns	ns	*	ns	**
Linear	**	ns	ns	ns	*	ns	**
Quadrático	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
I x N	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	5,0	10,6	1,9	4,4	3,1	5,3	8,2

**, *, ns: significativo a 1 e 5% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

bação de cobertura com nitrogênio, em relação ao tratamento controle, demonstram a importância dessa prática para o cultivo do milho safrinha em sucessão a soja na região Centro-Oeste.

No mesmo ano, houve aumento da quantidade de nitrogênio foliar em função do aumento das doses em cobertura (Figura 3). Todavia, os inoculantes não proporcionaram aumento do teor de nitrogênio foliar, como geralmente é observado quando se utiliza ino-

culação (Hungria et al., 2010; Montañez & Sicardi, 2013). Ainda para a mesma variável, não houve interação das doses de nitrogênio e dos inoculantes. Assim, o aumento do rendimento de grãos do milho em 2012, associado ao aumento do nitrogênio foliar, foi devido a realização da adubação de cobertura e não a utilização da inoculação das sementes de milho.

Além do rendimento de grãos, o aumento das doses de nitrogênio proporcionou aumento significati-

vo da altura das plantas em 2012 (Figura 4). Os primeiros estudos com as associações entre plantas e *Azospirillum* indicavam que os benefícios obtidos a partir da inoculação eram atribuídos a fixação biológica do nitrogênio atmosférico. No entanto, estudos posteriores demonstraram que os efeitos benéficos proporcionados por essas bactérias eram, principalmente, devido as alterações morfológicas e fisiológicas nas raízes das plantas inoculadas, acarretando incremento na absorção de água e nutrientes (Döbereiner et al., 1995).

Provavelmente, as maiores alturas de plantas e de espiga, verificadas nos tratamentos de plantas inoculadas em 2012, sejam devido a produção de substâncias promotoras de crescimento pelas bactérias contidas nos inoculantes. Ressalta-se ainda que os fitormônios, principalmente o ácido indol-acético (AIA), excretados por *Azospirillum* são fundamentais na promoção do crescimento de plantas (Spaepen et al., 2008).

As maiores alturas de plantas e de espiga obtidas com os inoculantes no segundo ano de avaliação (Tabela 2) corroboram com outros resultados de

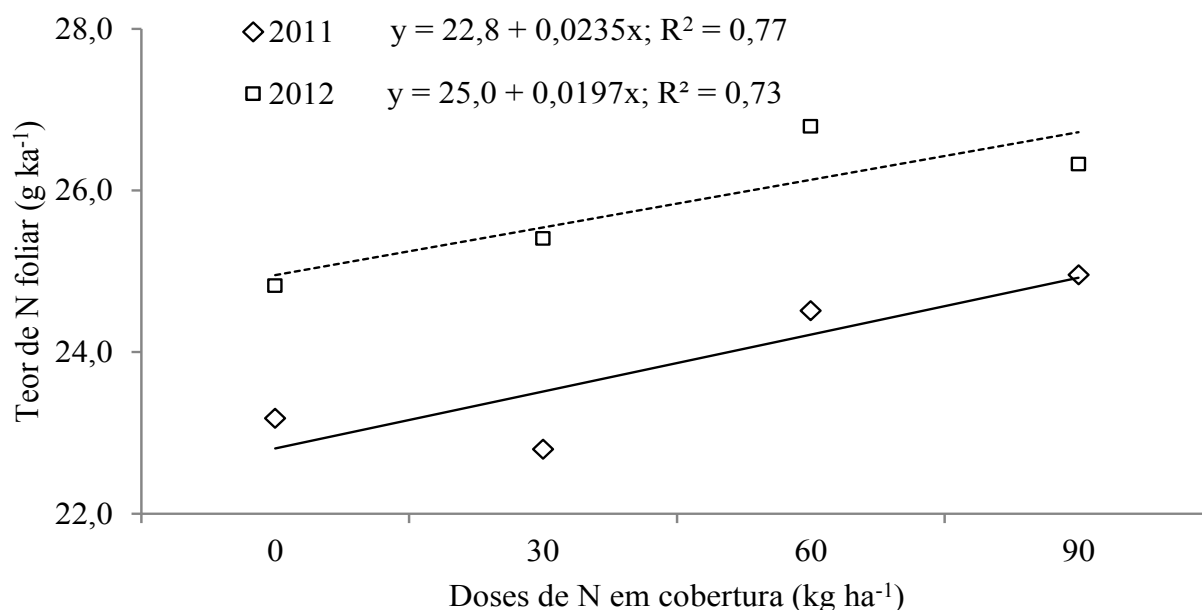


FIGURA 3. Teor de nitrogênio foliar em milho safrinha 2011 e 2012 em função da inoculação de sementes com *Azospirillum* e doses de nitrogênio em cobertura em Montividiu, GO.

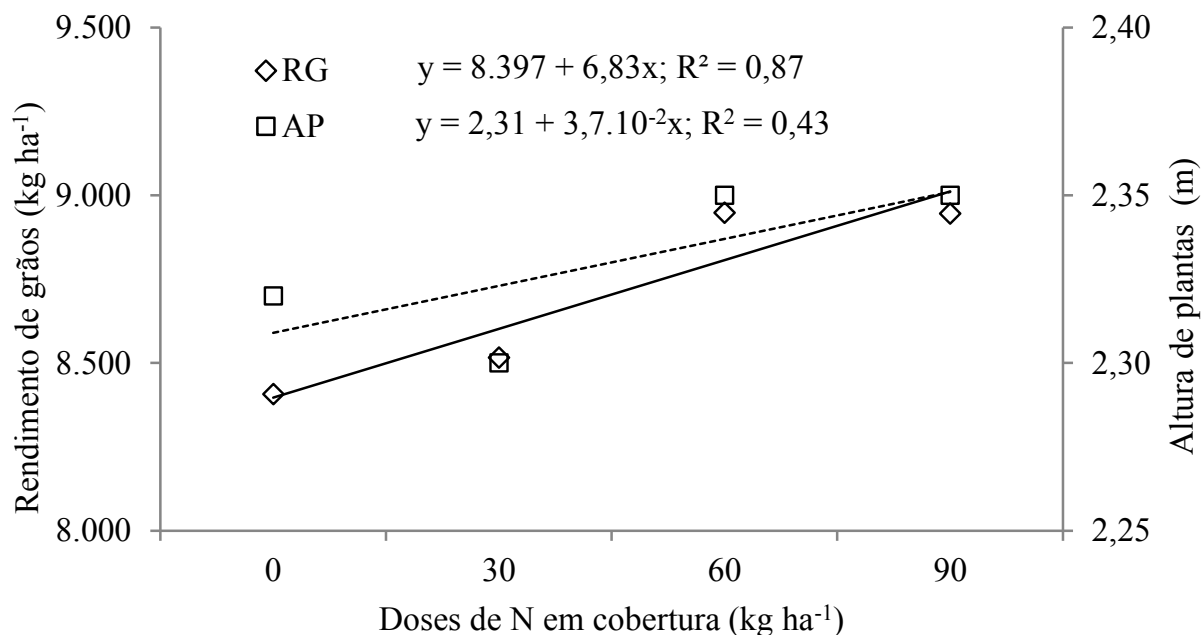


FIGURA 4. Rendimento de grãos e altura de plantas de milho safrinha em 2012 em função da inoculação de sementes com *Azospirillum* e doses de nitrogênio em cobertura em Montividiu, GO.

pesquisa (Braccini et al., 2012; Repke et al., 2013; Costa et al., 2015) em que a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum* spp. promoveu um maior crescimento das plantas. Este benefício reflete o maior desenvolvimento inicial das plantas, conforme resultados de vigor e altura inicial (Tabela 3), já que a altura é definida até o florescimento.

Outro fator responsável pela maior altura de plantas foi o aumento da disponibilidade de nitrogênio para a cultura do milho nos tratamentos com maiores doses (Figura 4). O processo de crescimento do vegetal depende desse elemento, uma vez que está diretamente relacionado com a divisão e expansão celular, além de favorecer os processos fotossintéticos da planta (Xu et al., 2012). Sabe-se que plantas bem nutridas em nitrogênio têm maior capacidade de assimilar CO₂ e sintetizar carboidratos durante a fotossíntese, resultando em maior crescimento (Vogel et al., 2013).

Fica evidente, portanto, que os maiores valores de rendimento de grãos e altura de plantas são justificados tanto pelo efeito favorável dos inoculantes (Tabela 2) como pela nutrição nitrogenada, expressa pelo teor de nitrogênio foliar (Figura 3). O maior vigor das plantas com a inoculação (Tabela 3), que ocorreu apenas em 2012, deve ter contribuído para os acréscimos no rendimento de grãos. Ressalta-se que a mineralização da matéria orgânica, a decomposição da palhada da soja e o fornecimento de nitrogênio mineral pelo fertilizante, aplicado na semeadura na safrinha de 2012 (14 kg ha⁻¹), não foram capazes de suprir a demanda da cultura do milho (Duarte, 2013).

A variável massa de mil grãos também não foi influenciada pela inoculação das sementes com *A. brasilense* e pelas doses de nitrogênio em cobertura na safrinha de 2012 (Tabela 2). Este resultado corrobora com os de Braccini et al. (2012), Kappes et al.

TABELA 3. Vigor (VIG), população (POP (I)) e altura de plantas (AP(I)) na fase inicial de desenvolvimento e análise de variância do ensaio de inoculação de sementes de milho com *Azospirillum* e doses de nitrogênio em cobertura, Montividiu, GO, 2012.

Tratamentos	VIG	POP(I) (pls ha ⁻¹)	AP(I) (m)
Controle	3,0	66.886	0,68
Masterfix	3,6	65.476	0,70
Azototal	4,3	65.789	0,69
Biomax Premium	4,7	67.043	0,71
Gelfix	3,8	65.476	0,72
--- Análise de variância ---			
Inoculante	**	ns	ns
Controle x Inoculantes	**	ns	ns
Gelfix x demais inoculantes	ns	ns	ns
Biomax x (Masterfix+Azototal)	*	ns	ns
Masterfix x Azototal	ns	ns	ns
C.V. (%)	13,1	3,2	5,4

** , * , ns: significativo a 1 e 5% e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

(2013) e Araújo et al. (2015), que também não verificaram efeitos da inoculação com *A. brasilense* na massa de mil grãos de milho.

Embora a associação de inoculação com *Azospirillum* e adubação nitrogenada em cobertura seja tecnologia promissora para a cultura do milho, é necessária a realização de outros trabalhos para melhor entendimento da interação dos seus efeitos no cultivo do milho safrinha.

Conclusões

A resposta do milho a inoculação com *Azospirillum* pode ser influenciada pelo tipo de inoculante e pelas condições do ambiente.

Os ganhos de rendimento de grãos em função da adubação de cobertura com nitrogênio demonstram a importância dessa prática para o milho safri-

nha independente da inoculação com *Azospirillum brasilense*.

Referências

- ARAÚJO, E. O.; MERCANTE, F. M.; VITORINO, A. C. T. Effect of nitrogen fertilization associated with inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* on corn. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 10, n. 3, p. 137-145, 2015.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacteria *Azospirillum* promotes plant growth: a critical assessment. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 108, p. 77-136, 2010.
- BATAGLIA, O. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, A. M. C.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: IAC, 1978. 31

- p. (Circular, 87).
- BRACCINI, A. L.; DAN, L. G. M.; PICCININ, G. G.; ALBRECHT, L. P.; BARBOSA, M. C.; ORTIZ, A. H. T. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associate with the use of bioregulators in maize. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 58-64, 2012.
- CAMPOS, B. H. C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. Inoculante “graminante” nas culturas de trigo e aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 3, p. 401-407, 1999.
- CAMPOS, B. H. C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. Avaliação do inoculante “graminante” na cultura de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 3, n. 4, p. 713-715, 2000.
- CANTARELLA, H.; DUARTE, A. P. Tabela de recomendação de adubação NPK para milho safrinha no Estado de São Paulo. In: SEMINÁRIO SOBRE A CULTURA DO MILHO SAFRINHA, 4., Assis, 1997. **Anais...** Campinas: IAC, 1997. p. 65-70.
- COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. S. F.; NAVES, D. C. F.; SANTOS, C. B.; ROCHA, A. F. S. Eficiência de inoculante com *Azospirillum brasilense* no crescimento e produtividade de milho de segunda safra. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 304-311, 2015.
- DÍAZ ZORITA, M. *Avaliação da produção de milho (Zea mays L.) inoculado com Azospirillum brasilense na Argentina*. In: PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; DUARTE, A. P.; TSUNECHIRO, A. **Diversidade e inovações na cadeia produtiva de milho e sorgo na era dos transgênicos**. Campinas: Instituto Agrônomico; Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2012. p. 529-536.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L.; REIS, V. M. Endophytic occurrence of diazotrophic bacteria in non-leguminous crops. In: FENDRIK, I.; DEL GALLO, M.; VANDERLEYDEN, J.; ZAMOROCZY, M. de (Ed.). **Azospirillum VI and related microorganisms**. Berlin: Springer, 1995. p. 3-14.
- DUARTE, A. P. Adubação: cada milho com o manejo que merece. **A Granja**, Porto Alegre, n. 771, p. 38-42, 2013.
- FERREIRA, A. S.; PIRES, R. R.; RABELO, P. G.; OLIVEIRA, R. C.; LUZ, J. M. Q.; BRITO, C. H. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutriente addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 72, p. 103-108, 2013.
- GOEDERT, W. J. Management of the Cerrado soils of Brazil: a review. **Journal of Soil Science**, Oxford, v. 34, n. 3, p. 405-428, 1983.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.; SOUZA, E.; PEDROSA, F. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Hague, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.
- KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; DAL BEM, E. A.; PORTUGAL, J. R.; VILELA, R. G. Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 527-538, 2013.
- MEHNAZ, S.; KOWALIK, T.; REYNOLDS, B.; LAZAROVITS, G. Growth promoting effects of corn (*Zea mays*) bacterial isolates under greenhouse and field conditions. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 42, n. 10, p. 1848-

- 1856, 2010.
- MONTAÑEZ, A.; SICARDI, M. Effects of inoculation on growth promotion and biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) under greenhouse and field conditions. **Basic Research Journal of Agricultural Science and Review**, Nigeria, v. 2, n. 4, p. 102-110, 2013.
- QUEZADA, J. C.; LENSSEN, A. W.; MOORE, K. J.; SAWYER, J. E.; SUMMER, P. Amino acid biosynthesis by products are a suitable source of nitrogen for corn production. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 184, p. 123-132, 2015.
- REPKE, R. A.; CRUZ, S. J. S.; SILVA, C. J.; FIGUEIREDO, P. G.; BICUDO, S. J. Eficiência do *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 12, n. 3, p. 214-226, 2013.
- SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 353 p.
- SPAEPEN, S.; DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; VANDERLEYDEN, J. Effects of *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid production on inoculated wheat plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 312, n. 1/2, p. 15-23, 2008.
- SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 416 p.
- VOGEL, G. F.; MARTINKOSKI, L.; BITTENCOURT, H. V. H.; GRILLO, J. F. Agronomic performance of *Azospirillum brasilense* on wheat crops. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, Guarapuava, v. 6, n. 3, p. 111-119, 2013.
- XU, G.; FAN, X.; MILLER, A. J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency (review). **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 63, n. 5, p. 153-182, 2012.
- YAN, X.; TI, C.; VITOUSEK, P.; CHEN, D.; LEIP, A.; CAI, Z.; ZHU, Z. Fertilizer nitrogen recovery efficiencies in crop production systems of China with and without consideration of the residual effect of nitrogen. **Environmental Research Letters**, Berkeley, v. 9, n. 9, p. 1-9, 2014.