

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CASSILÂNDIA
CURSO DE AGRONOMIA

**MODOS DE APLICAÇÃO DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*
NO CRESCIMENTO INICIAL DO MILHO**

Acadêmico: Agner de Freitas Andrade

Orientador: Prof. Dr. Tiago Zoz

Membros da Banca:

1. Orientador: Prof. Dr. Tiago Zoz

2. Membro Titular 1: Prof. Dr. Fábio Steiner

3. Membro Titular 2: Eng. Agro. André Zoz

Suplente: Prof. Dr. Simone Cândido Ensinas

Data: 24/06/2016. Horário: 13:00 h

Local:

Multimeios

Auditório

Outros

Cassilândia-MS

Junho de 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CASSILÂNDIA
CURSO DE AGRONOMIA

**MODOS DE APLICAÇÃO DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*
NO CRESCIMENTO INICIAL DO MILHO**

Acadêmico: Agner de Freitas Andrade

Orientador: Tiago Zoz

“Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte das exigências do Curso de Agronomia para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo”.

Cassilândia-MS

Junho de 2016

FOLHA DE APROVAÇÃO

EPIGRAFE

A grandeza vem não quando as coisas sempre vão bem para você, mas a grandeza vem quando você é realmente testado, quando você sofre alguns golpes, algumas decepções, quando a tristeza chega. Porque apenas se você esteve nos mais profundos vales você poderá um dia saber o quão magnífico é se estar no topo da mais alta montanha.

Richard Milhous Nixon

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Creomar Augusta de Freitas e Aguimar Pereira de Andrade, as minhas irmãs Stefânia Augusta de Freitas da Silva e Paulina Severino Pacheco, aos meus sobrinhos Guilherme Rodrigues Neto e Gabriela Rodrigues de Freitas e também aos meus tios Aparecido Jovem de Freitas, Lucellenne Dias Moraes, Amauri Pereira de Andrade e Carmen pereira de Andrade, aos meus avos, por todo amor, confiança, apoio e por serem exemplos de vida e fonte de inspiração para a busca dos meus objetivos. Muitas vezes, abdicando de seus próprios desejos e sonhos para garantir que eu os tivesse. Eternamente grato pela força e inspiração. Amo todos vocês!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por conceder-me força, coragem e sabedoria para vencer mais um desafio sem deixar-me abater pelos obstáculos.

Aos meus pais Aguiamar Pereira de Andrade e Creomar Augusta de Freitas que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com respeito e dignidade.

A minha irmã Stefânia Augusta de Freitas Silva por toda amizade, dedicação, companheirismo.

Aos meus avós

Aos meus Tios Aparecido Jovem de Freitas e Lucellenne Dias Moraes, Amauri Pereira de Andrade e Carmen Pereira de Andrade que me incentivaram e me ajudaram em toda minha graduação.

Ao meu orientador Dr. Tiago Zoz, e ao Prof. Dr. Fabio Steiner não somente pelas orientações, mas por todos os ensinamentos, pelo exemplo profissional, pela confiança em mim depositada, pelo incentivo e apoio durante a execução desta pesquisa.

Aos meus amigos André Zoz e Jardel Zoz pela amizade e todas suas ajudas na condução da pesquisa.

À Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Cassilândia, pela oportunidade da formação concedida.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	2
2.1. Localização e caracterização experimental	2
2.2. Instalação e Condução do Experimento	3
2.3. Variáveis avaliadas	4
2.4. Análises estatísticas	6
3. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	6
4. CONCLUSÕES	15
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características químicas do solo na camada de 0 - 20 cm antes da implantação do experimento. Cassilândia-MS. 2016	3
--	---

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Emergência de plântulas (a) e índice de velocidade de emergência – IVE (b) dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*.....7
- Figura 2.** Índice relativo de clorofila (IRC) nos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*.....8
- Figura 3.** Diâmetro de colmo dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*.9
- Figura 4.** Número total de folhas expandidas por planta (a e b) e altura de plantas (c e d) dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*..... 10
- Figura 5.** Área foliar (a e b) e massa de matéria seca de folhas (c e d) e Massa de matéria seca de colmo (e e f) dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*. 11
- Figura 6.** Volume do sistema radicular (a e b), massa de matéria seca do sistema radicular (c e d) e densidade do sistema radicular (e e f) dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*.12
- Figura 7.** Massa de matéria seca da parte aérea (a e b) e massa de matéria seca total (c e d) dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*..... 13
- Figura 8.** Razão de área foliar (a e b), área foliar específica (c e d) e razão de massa foliar (e e f) dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*..... 14

RESUMO

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a influência dos modos de aplicação de *Azospirillum brasilense* no crescimento inicial do milho. O experimento foi conduzido sob cultivo protegido na estação experimental Agronômica da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), em Cassilândia-MS, no período de Março a Abril de 2016. Para a realização do experimento foi adotado delineamento de blocos casualizados com quatro repetições, em esquema fatorial 4x2. O primeiro fator foi composto por quatro modos de aplicação de *A. brasilense* (sem aplicação, aplicação na semente, aplicação no sulco de semeadura e aplicação via foliar sendo realizada aos 9 dias após a emergência). O segundo fator foi composto por dois híbridos de milho (NS 92 e Impacto). Foram semeadas 10 sementes por vaso e após a estabilização do estande foi realizado o desbaste deixando-se apenas uma planta por vaso. Os dados foram submetidos a análise de variância e utilizou-se o teste t (LSD) para comparação das médias relativas aos modos de aplicação e teste F para comparação de médias entre os híbridos. A aplicação de *A. brasilense* na semente pode reduzir a porcentagem de emergência e o índice de velocidade de emergência de plântulas de milho, dependendo do genótipo. A aplicação de *A. brasilense* não resultou de forma geral em alterações no crescimento inicial do milho. A resposta das plantas a aplicação de *A. brasilense* é variável, dependendo basicamente do genótipo de milho utilizado.

Palavras-chave: *Zea mays*, nitrogênio, fixação biológica, modo de inoculação.

ABSTRACT

This work was to evaluate the influence of *Azospirillum brasilense* application modes in the early growth of corn. The experiment was conducted under protected cultivation in the Agronomic Experimental Station of the State University of Mato Grosso do Sul (UEMS) in Cassilândia-MS, from March to April 2016. For the experiment was adopted a randomized block design with four replications in a 4x2. The first factor consisted of four *Azospirillum brasilense* application methods (without application, application in the seed furrow application of seeding and application through the leaf being held for nine days after emergence). The second factor was composed of two hybrids corn (NS 92 and Impact). were seeded 10 seeds per pot and after stabilization of the stand was carried out thinning leaving only one plant per pot. The data were submitted to analysis of variance and we used the t (LSD) test to compare the averages for the application modes and F test to compare means between hybrids. the application of *Azospirillum brasilense* in the seed can reduce the emergence percentage and emergence speed index corn seedlings, depending on the genotype. the application of *Azospirillum brasilense* generally not resulted in changes in the initial growth of maize. the plant response *Azospirillum brasilense* of application is variable depending primarily maize genotype used.

Keu-words: *Zea mays*, nitrogen, biological fixation, inoculation mode.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos mais importantes produtos do setor agrícola brasileiro. A utilização deste cereal se dá de diversas formas, desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia, sendo que 70% do uso desse cereal em grão ocorre na alimentação animal.

Houve um significativo aumento na produtividade de milho ao longo das últimas décadas, e isto se deve à aplicação de novas tecnologias tais como práticas de manejo e conservação do solo, manejo fitossanitário, escolha de material genético adaptado para determinada região e adubações equilibradas, (DOTTO et al., 2010).

Em relação a adubação equilibrada, deve-se destacar que o nitrogênio é um nutriente muito importante na cultura do milho, sendo um dos maiores limitantes da produtividade da cultura. Os solos brasileiros apresentam, em sua maioria, baixo teor de N disponível tornando a adubação nitrogenada uma prática indispensável, e para suprir a necessidade da cultura são necessárias significativas quantidades de nitrogênio. Atualmente a fonte de nitrogênio mais utilizada é a ureia, que por sua vez é uma fonte não renovável, por ser derivada do petróleo, fazendo com que os fertilizantes nitrogenados representem um alto custo na agricultura (DARTORA et al., 2013; DOTTO et al., 2010).

Devido ao alto custo com fertilizantes nitrogenados e a busca por novas tecnologias que reduzam o custo de produção, a utilização de bactérias diazotróficas fixadoras de nitrogênio é uma alternativa promissora, com vários benefícios sob os aspectos econômicos e ambientais (HUNGRIA, 2011).

Segundo alguns autores, a inoculação com as estirpes da bactéria *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e *H. seropedicae* - SmR1) tem proporcionado ganhos na cultura do milho, principalmente, relacionados ao maior diâmetro do colmo e massa seca de parte aérea (DARTORA et al. 2012). Naves et al. (2014) observaram que a inoculação do milho com a bactéria *A. brasiliense* resultou em incrementos significativos da altura e diâmetro de colmo. Reis Junior et al. (2008)

trabalhando com a inoculação de milho com *Azospirillum amazonense* observaram maior produção de matéria seca e maior quantidade de N acumulado nas raízes.

Quando se utiliza bactérias diazotróficas, é de fundamental importância que se tenha um número alto de bactérias viáveis, se tornando essa a maior dificuldade na utilização dessa tecnologia devido as sementes virem tratadas com fungicidas das empresas, além do período entre inoculação e semeadura ser curto devido a viabilidade da bactéria, assim diversos estudos vem sendo realizados com intuito de definir a melhor forma de aplicação das bactérias.

Muller et al. (2012) trabalhando com dois modos de aplicação na cultura do milho (aplicação direta no sulco de semeadura e tratamento de sementes) não observaram diferenças significativas entre as formas de aplicação clorofila total, índice de área foliar, altura de planta, altura de inserção das espigas, e produtividade. Por sua vez Ciciliato e Casimiro (2015) trabalhando com a aplicação de *Azospirillum* sp. via foliar na cultura do milho onde observou que não houve efeito significativo na produtividade e massa de mil grão, mesmo sendo observado um pequeno incremento quando inoculado.

Desta forma o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência dos modos de aplicação de *A. brasiliense* no crescimento inicial do milho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Localização e caracterização experimental

O experimento foi conduzido sob cultivo protegido na estação experimental Agronômica da Universidade estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), em Cassilândia-MS (longitude 51°48` O, latitude 19°05` S e altitude média de 470 m), no período de Março a Abril de 2016.

Cada unidade experimental foi composta por um vaso com volume de 5,0 dm³ preenchidos com solo coletado na camada de 0 a 20 cm de profundidade. O solo utilizado é classificado como Neossolo Quartzarênico (EMBRAPA, 2006) de textura arenosa (95 g kg⁻¹ de argila, 50 g kg⁻¹ de silte e 855 g kg⁻¹ de areia).

Antes da implantação do experimento foram coletadas amostras de solo de 0 – 20 cm de profundidade, que foram enviadas para o Laboratório de Fertilidade do Solo, da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP) para a realização das análises químicas, seguindo metodologia proposta por Raij et al. (2001). Os resultados da análise química do solo são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Características químicas do solo na camada de 0 - 20 cm antes da implantação do experimento. Cassilândia-MS. 2016

pH	P _{resina} mg dm ⁻³	M.O. g dm ⁻³	K	Ca	Mg	Al	Al+H	SB	CTC	V%	S-SO ₄ mg dm ⁻³
5,2	2,0	14,0	1,7	10,0	7,0	0,0	22,0	18,7	40,7	46,0	2,0
	m	B		Cu		Fe		Mn			Zn
	%					mg dm ⁻³					
	0,0	0,08		0,60		8,00		5,70			0,30

2.2. Instalação e Condução do Experimento

Para a realização do experimento foi adotado delineamento de blocos casualizados com quatro repetições, em esquema fatorial 4x2. O primeiro fator foi composto por quatro modos de aplicação de *Azospirillum brasilense* (sem aplicação, aplicação na semente, aplicação no sulco de semeadura e aplicação via foliar). O segundo fator foi composto por dois híbridos de milho (NS 92 e Impacto).

Para o tratamento de sementes, utilizou-se a dose de 100 mL de inoculante para 60.000 sementes, o que corresponde a 333.333 células por semente. Para aplicação no sulco, foi realizada a semeadura, e antes de fechar o sulco, com uma micropipeta foi adicionado o inoculante em cada sulco. A dose utilizada foi de 6,0 litros por hectare que corresponde a 20.000.000 células por semente. Após a adição do inoculante os sulcos foram fechados.

Para aplicação foliar foi utilizada a dose de 100 mL por hectare que corresponde a 333.333 células por planta. A pulverização foi realizada aos 9 dias após a emergência (DAE) com volume de calda de 165 L ha⁻¹. Utilizou-se um pulverizador costal com ponta tipo cônico. A pulverização foi realizada no final da tarde visando evitar perdas por evaporação.

Foram semeadas 10 sementes por vaso e após a estabilização do estande foi realizado o desbaste deixando-se apenas uma planta por vaso.

Aos 15 DAE foi realizada a adubação com 150 mg dm⁻³ de K (Cloreto de Potássio) e 300 mg dm⁻³ de P (Superfosfato Simples). As fontes de fertilizantes foram diluídas em água e então aplicadas nos vasos. Como irrigação, aplicou-se diariamente 180 ml de água por vaso. Os tratos fitossanitários foram realizados de acordo com a recomendação para a cultura.

2.3. Variáveis avaliadas

Após a semeadura foram realizadas as seguintes avaliações:

- Emergência de plântulas (%): Obtida por contagem das plântulas emergidas após a estabilização do estande.
- Índice de velocidade de emergência (IVE): obtido registrando-se diariamente o número de plântulas emergidas, até a estabilização da emergência, e este foi calculado pela fórmula proposta por Maguire (1962): $IVE = E1/N1 + E2/N2 + \dots + En/Nn$, onde E1, E2, ..., En = número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem. N1, N2, ..., Nn = número de dias da semeadura à primeira, segunda e última contagem.

Ao final do experimento, aos 43 dias após a semeadura, foram realizadas as seguintes avaliações:

- Diâmetro de colmo (mm): obtido com paquímetro digital no primeiro entre nó.
- Altura de planta (cm): foi definido como sendo a distância do nível do solo até o ápice do dossel da planta.
- Número total de folhas expandidas por planta: obtido por contagem.
- Índice relativo de clorofila: obtido com medidor portátil corofilômetro.

Foram realizadas quatro leituras em cada planta.

- Massa de matéria seca (g/planta): definida como o seu peso, expresso em gramas para cada órgão em separado, isto é, de raízes (MSR), colmos (MSC) e lâminas foliares (MSF). A massa de matéria seca da parte aérea

(MSPA) correspondeu à massa seca das lâminas foliares somada à massa seca dos colmos. A massa de matéria seca total (MST) correspondeu à soma das massas de todos os órgãos existentes.

- Volume do sistema radicular ($\text{cm}^3/\text{planta}$): as raízes foram lavadas e imersas em uma proveta com volume de água conhecido, sendo o volume de água deslocado, o volume do sistema radicular.

- Área foliar ($\text{dm}^2/\text{planta}$): foi definida pelo método dos discos foliares, utilizando-se um vazador com área conhecida. Foram destacados discos foliares das porções basal, mediana e apical do limbo foliar. Através da área conhecida dos discos foliares destacados, do peso dos mesmos e do peso da folha, tomados através de uma balança analítica, após secagem em estufa de ventilação forçada, por 72 horas à 65°C , foi estimada a área foliar total.

- Densidade do sistema radicular (g/cm^3): obtida pela divisão da massa seca do sistema radicular (MSR) pelo volume do sistema radicular (VOL), conforme a seguinte fórmula:

$$\text{Densidade do sistema radicular} = \frac{\text{MSR}}{\text{VOL}}$$

- Razão de área foliar ($\text{dm}^2 \text{g}^{-1}$): expressa a área foliar útil para fotossíntese (BENINCASA, 2003) e foi obtida a partir dos valores instantâneos de área foliar (AF), área responsável pela interceptação de energia luminosa e CO_2 , e massa seca total (MST), resultado da fotossíntese, segundo a equação:

$$\text{Razão de área foliar} = \frac{\text{AF}}{\text{MST}}$$

- Área foliar específica ($\text{dm}^2 \text{g}^{-1}$): reflete o inverso da espessura da folha (BENINCASA, 2003) e foi obtido pela razão entre a área foliar (AF) e a massa seca de folhas (MSF):

$$\text{Área foliar específica} = \frac{\text{AF}}{\text{MSF}}$$

- Razão de massa foliar (g g^{-1}): expressa a matéria seca translocada da folha para outros órgãos do vegetal, por meio da relação entre massa seca da folha (MSF) e massa seca total (MST) da planta (BENINCASA, 2003), como a seguir:

$$\text{Razão de massa foliar} = \frac{\text{MSF}}{\text{MST}}$$

2.4. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos aos testes preliminares para verificação da normalidade. Quando não constatada a normalidade, os dados foram transformados em raiz quadrada de x. Após, os dados foram submetidos a análise de variância com auxílio do programa estatístico Sisvar 5.6 e utilizou-se o teste t (LSD) para comparação das médias relativas aos modos de aplicação e teste F para comparação de médias entre os híbridos.

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Houve interação entre os modos de aplicação de *Azospirillum brasiliense* e os híbridos de milho apenas para a porcentagem de emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, índice relativo de clorofila e diâmetro do colmo.

A aplicação de *Azospirillum* via semente resultou em menor porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas do híbrido NS 92 (Figura 1). Porém não foi verificado efeito do modo de aplicação do *Azospirillum* no híbrido Impacto.

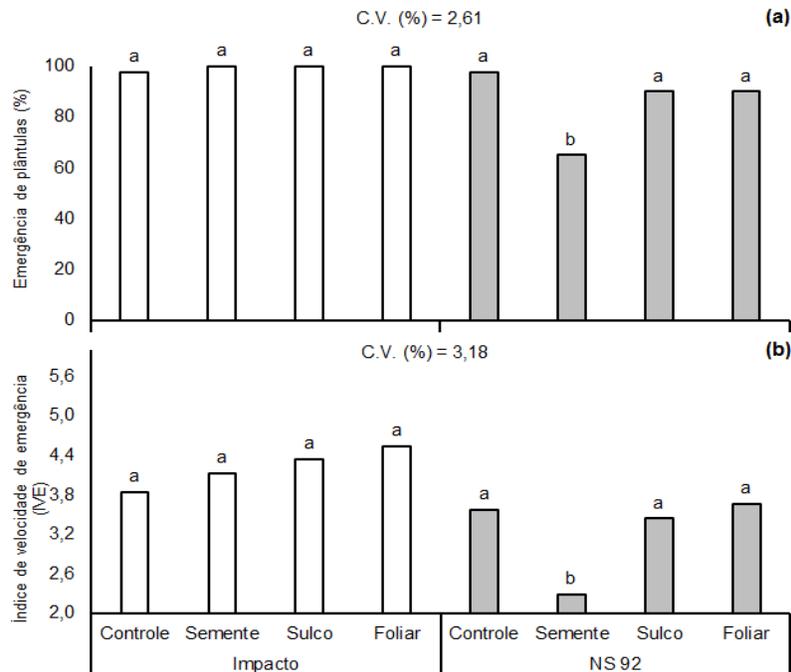


Figura 1. Emergência de plântulas (a) e índice de velocidade de emergência – IVE (b) dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*. Barras seguidas pela mesma letra dentro de cada híbrido, não diferem entre si, pelo teste t (LSD) ao nível de 5 % de probabilidade.

Em relação ao índice relativo de clorofila, houve diferenças apenas entre , os modos de aplicação foliar e sulco para o híbrido Impacto. Verificou-se maior índice relativo de clorofila quando se aplicou *Azospirillum* via foliar em relação à aplicação no sulco, resultando uma maior fotossíntese da planta, que consequentemente produzir mais fotoassimilados. No entanto, não houve diferença entre o controle e a aplicação foliar (Figura 2). Para o híbrido NS 92 não foi verificada efeito dos modos de aplicação de *Azospirillum* (Figura 2).

Os resultados encontrados na literatura são contraditórios. Mello (2012) trabalhando com aplicação de *A. brasilense* na semente não observou efeito no teor de clorofila na cultura do milho. Por outro lado, outros autores verificaram que a aplicação de *Azospirillum spp.* resultou e maiores teores de clorofila em planta de milho (GUIMARÃES et al., 2013; JORDÃO et al., 2010). Em trabalho realizado por Araújo (2014) verificou-se aumento do teor de clorofila do milho com a aplicação da estirpe Z-94 de *H. seropedicae* via semente.

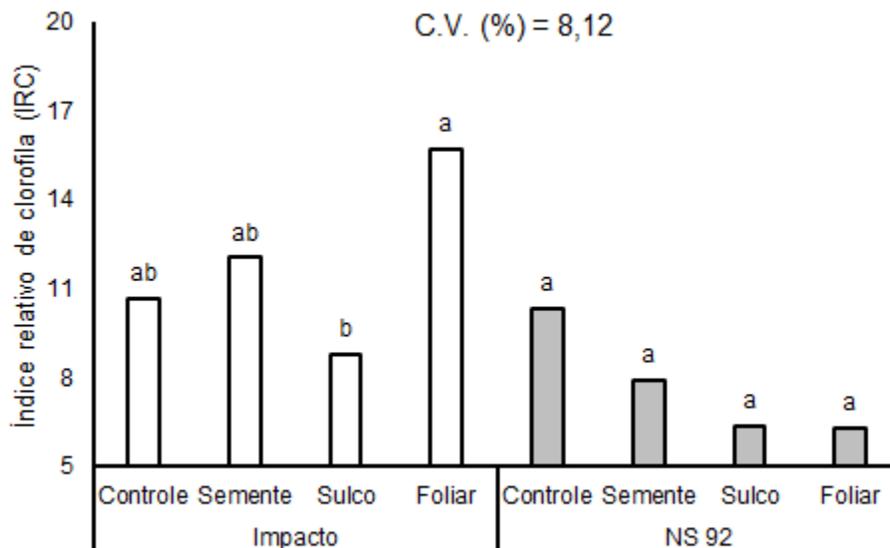


Figura 2. Índice relativo de clorofila (IRC) nos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*. Barras seguidas pela mesma letra dentro de cada híbrido, não diferem entre si, pelo teste t (LSD) ao nível de 5 % de probabilidade.

Em um estudo realizado por Muller et al. (2012), os autores não verificaram diferença no teor de clorofila do milho quando se aplicou *Azospirillum* via semente e no sulco.

Para o diâmetro do colmo houve diferença entre os modos de aplicação apenas para o híbrido NS 92. A aplicação de *Azospirillum* via sulco resultou em menor diâmetro do colmo em relação ao controle (Figura 3). Os demais modos de aplicação não diferiram do controle.

Alguns autores verificaram que a aplicação de *Azospirillum* via semente resultou e maior diâmetro do colmo de milho (DARTORA et al., 2013). Em trabalho de Naves et al. (2014) trabalhando com aplicação de *Azospirillum* via semente e foliar (estádio V4) também foi observado maior diâmetro do colmo com ambos os modos de aplicação. Por outro lado, Araújo et al. (2013) não verificaram aumento do diâmetro do colmo com a aplicação de *A. brasilense*, *Herbaspirillum seropedicae* e nitrogênio.

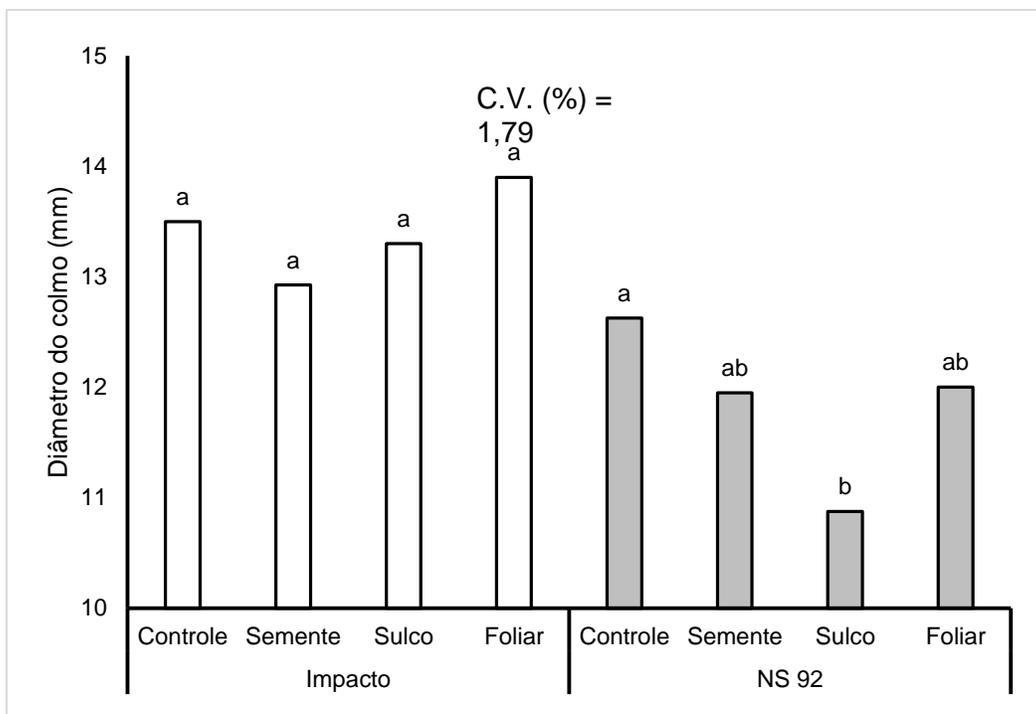


Figura 3. Diâmetro de colmo dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*. Barras seguidas pela mesma letra dentro de cada híbrido, não diferem entre si, pelo teste t (LSD) ao nível de 5 % de probabilidade.

O número total de folhas expandidas (Figura 4a e 4b) e a altura de planta (Figura 4c e 4d) não foram influenciadas significativamente pelos modos de aplicação de *A. brasilense* e pelos híbridos de milho.

Em trabalhos realizados por Dartora et al. (2013) e Araújo et al (2013) com aplicação de *A. brasiliense* e *Herbaspirillum seropedicae* na semente de milho não foram constadas influências na altura de planta.

Efeito similares também foram encontrado por Guimarães et al. (2013) que trabalharam com a inoculação de quatro estirpes de *Azospirillum spp.* (AZ01, AZ04, AZ07 e AZ08) e dois tratamentos controle (com e sem aplicação de N) não constataram diferenças na altura de plantas. Entretanto, Naves et al. (2014) verificou que a aplicação de *A. brasilense* via sementes resultou em maior altura de plantas de milho quando comparada a aplicação via foliar e a testemunha. Marini (2012) destaca que a altura de planta de milho teve influência do fator

genético, representado pelo diferentes híbridos e a aplicação de *Azospirillum* não resultou em alteração na altura de planta.

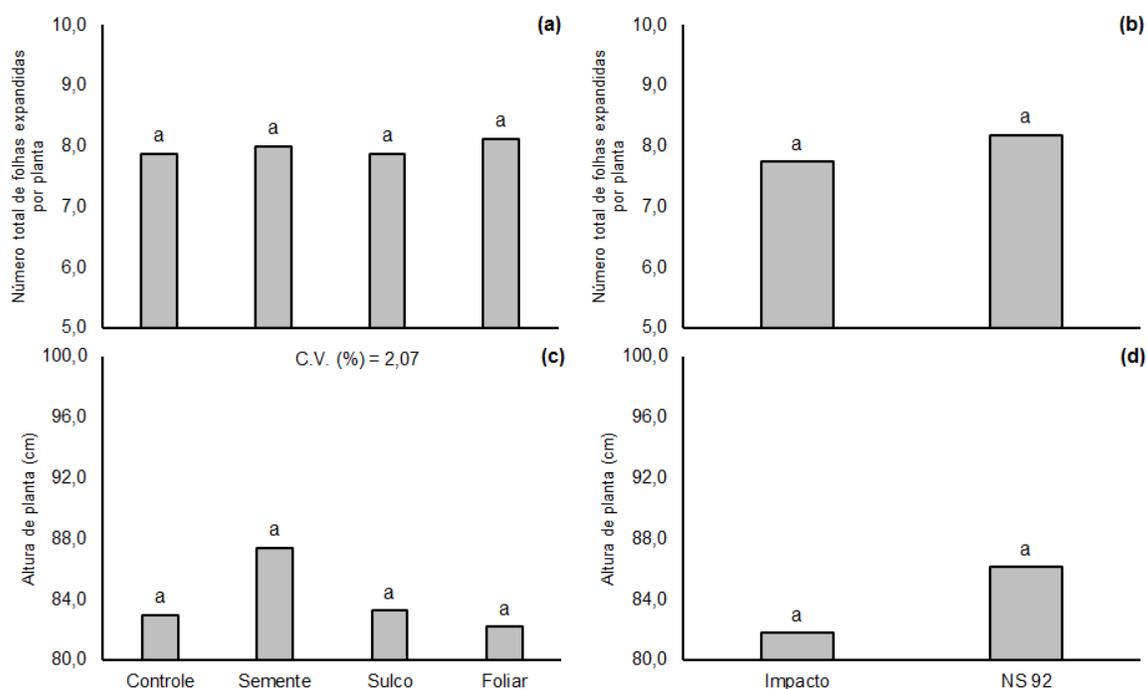


Figura 4. Número total de folhas expandidas por planta (a e b) e altura de plantas (c e d) dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*. Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste t (LSD) para os modos de aplicação e Teste F para os híbridos, ao nível de 5 % de probabilidade.

Quanto à área foliar (Figura 5a), massa de matéria seca de folhas (Figura 5c) e massa de matéria seca de colmo (Figura 5e) não foram constatados efeitos dos modos de aplicação de *A. brasiliense*. Resultados semelhantes foram verificados por Dartora et al. (2013) que não constaram efeitos da aplicação de *Azospirillum* via semente na área foliar e na massa de matéria seca de folha e de colmo. Por outro lado, Marini et al. (2012) constatou que a aplicação de *Azospirillum* resultou em maior área foliar do milho.

Em relação aos híbridos, o NS 92 apresentou maior área foliar (Figura 5b) e massa de matéria seca de folhas (Figura 5d) que o híbrido Impacto. Não houve diferença entre os híbridos para a massa de matéria seca do colmo (Figura 5f)

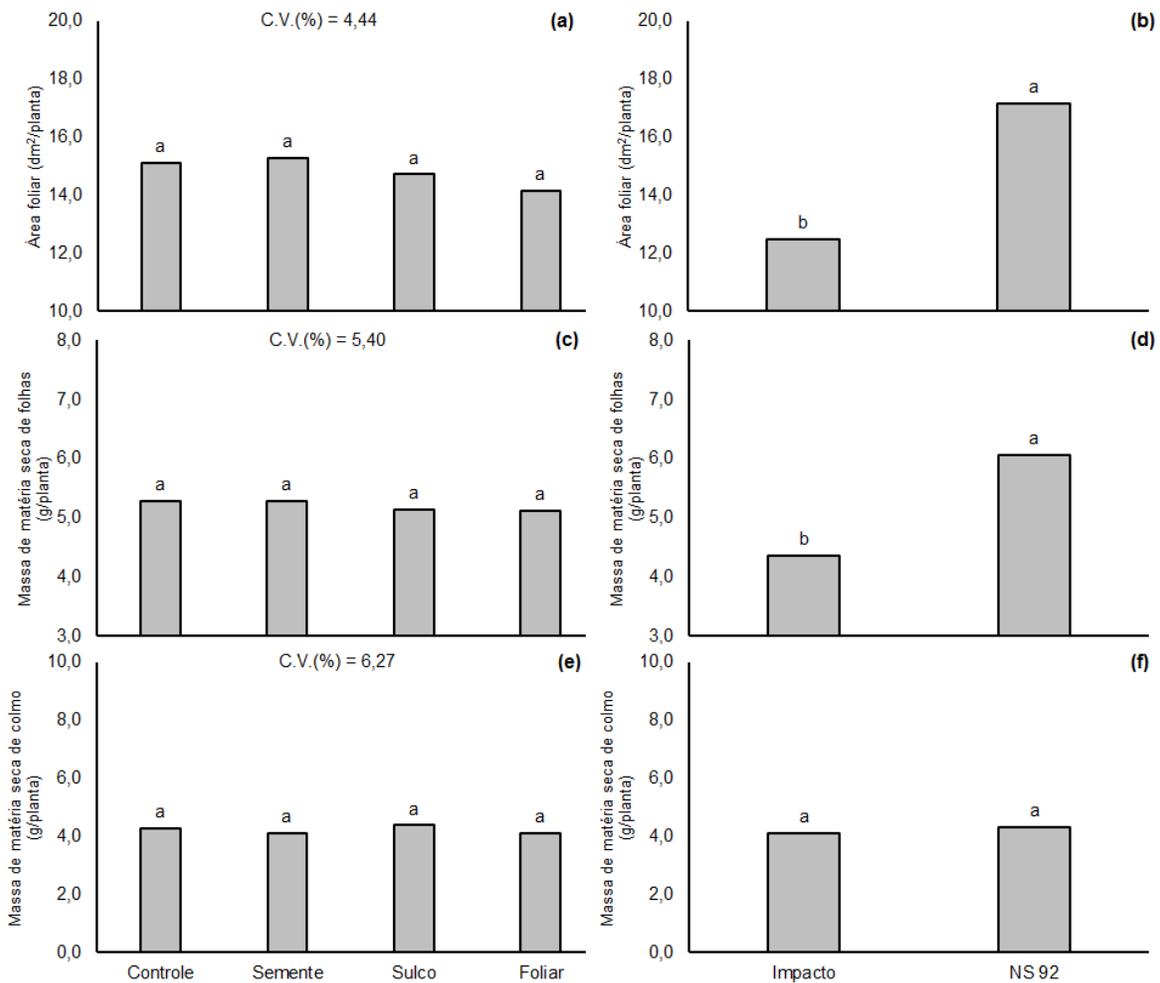


Figura 5. Área foliar (a e b) e massa de matéria seca de folhas (c e d) e Massa de matéria seca de colmo (e e f) dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*. Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste t (LSD) para os modos de aplicação e Teste F para os híbridos, ao nível de 5 % de probabilidade.

O volume do sistema radicular (Figura 6a e 6b), a massa de matéria seca de sistema radicular (Figura 6c e 6d) e a densidade do sistema radicular (Figura 6e e 6f) não foram influenciadas pelos modos de aplicação de *Azospirillum* e pelos híbridos de milho. Resultados diferentes foram encontrados por Reis Junior et al. (2008) em que foi constatado em dois genótipos de milho inoculados com *Azospirillum amazonense* maior massa de matéria seca de raízes quando comparado com plantas não inoculadas.

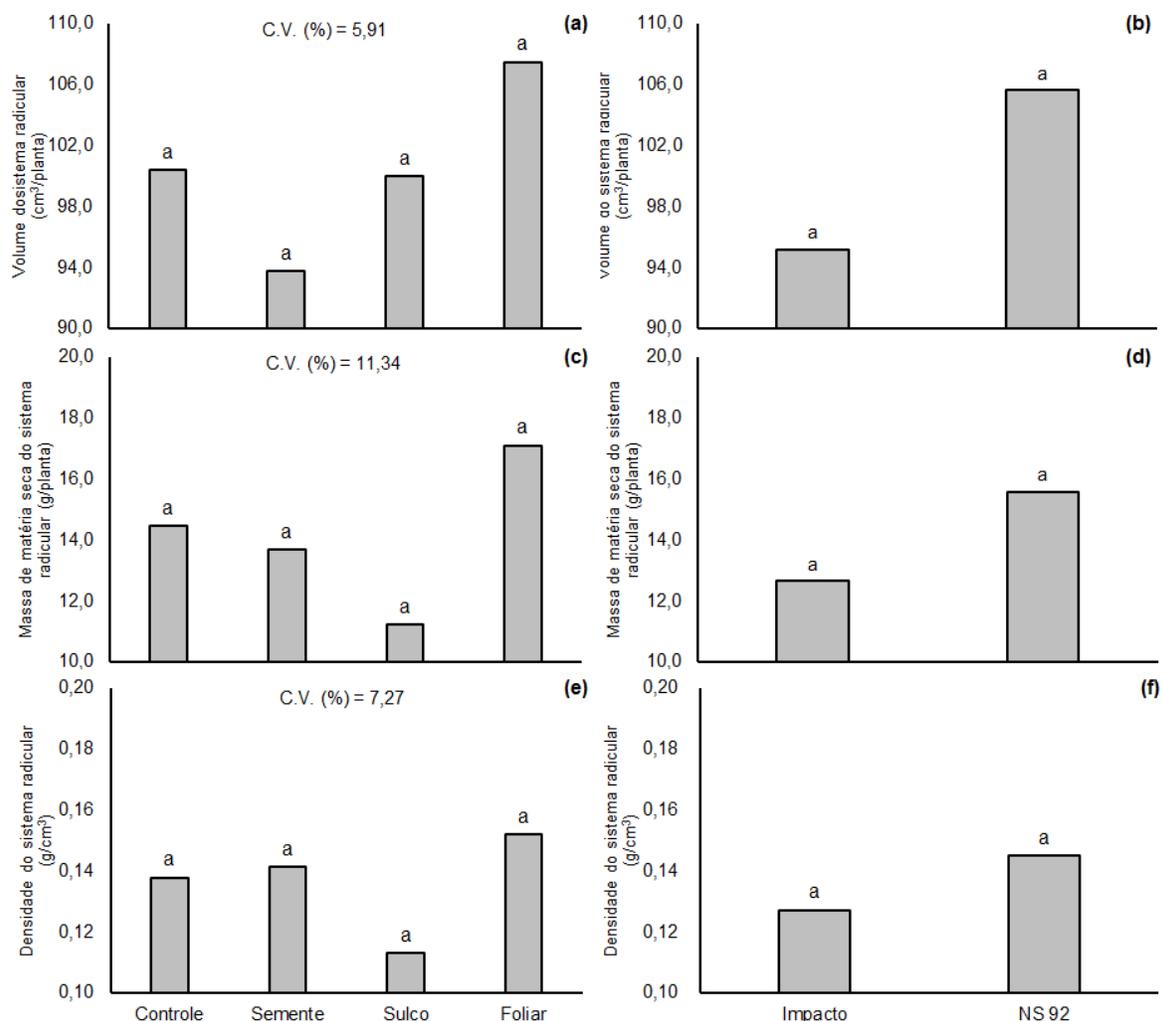


Figura 6. Volume do sistema radicular (a e b), massa de matéria seca do sistema radicular (c e d) e densidade do sistema radicular (e e f) dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*. Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste t (LSD) para os modos de aplicação e Teste F para os híbridos, ao nível de 5 % de probabilidade.

Para a massa de matéria seca de parte aérea (Figura 7a) e massa de matéria seca total (Figura 7c) não foi constatado efeito dos modos de aplicação de *Azospirillum*. O híbrido NS 92 apresentou maior massa de matéria seca da parte aérea em relação ao híbrido Impacto (Figura 7b). Não houve diferença na massa de matéria seca total de planta entre os dois híbridos avaliados (Figura 7d). Resultados semelhantes na cultura do milho foram encontrados por Repke et al. (2013) e Dartora et al. (2013) que não verificaram efeitos da aplicação de *Azospirillum* na massa de matéria seca da parte aérea e total. Reis Junior et al.

(2008) trabalhando com *Azospirillum amazonense* também não verificaram efeito na massa de matéria seca da parte aérea.

Em trabalho de Verona et al. (2010), mesmo sob condição de deficiência hídrica as plantas inoculadas com a *Azospirillum* obtiveram maior massa de matéria seca da parte aérea. Marini et al. (2012) avaliando a inoculação de sementes de milho com *A. brasilense* observou incremento de 12% na massa de matéria seca total em relação as plantas não inoculadas.

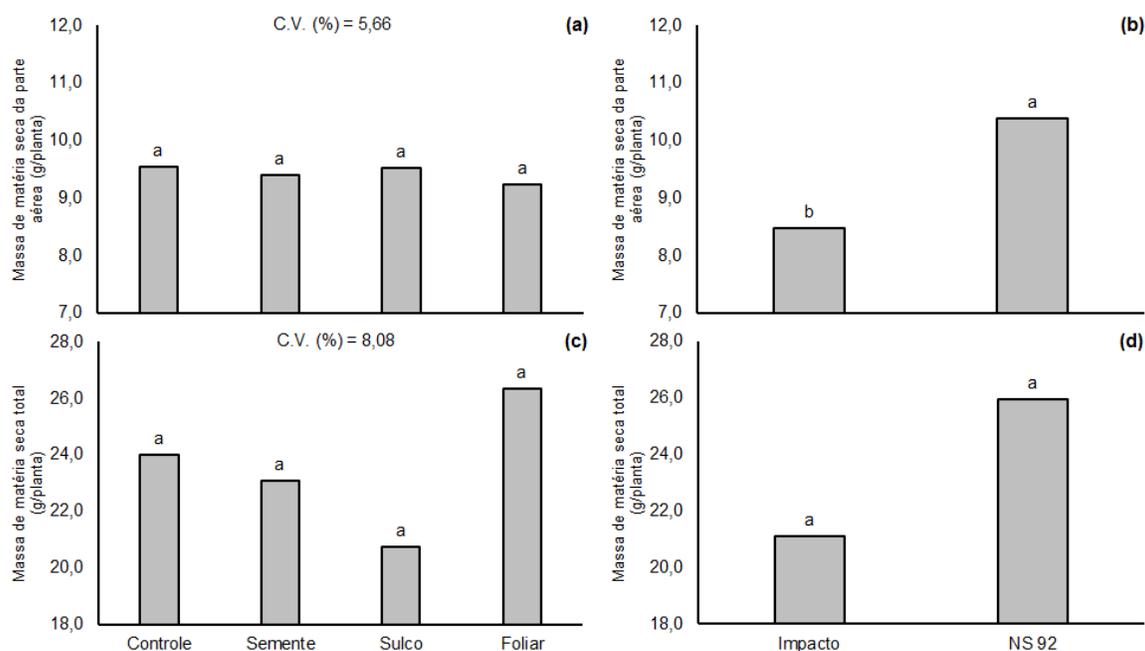


Figura 7. Massa de matéria seca da parte aérea (a e b) e massa de matéria seca total (c e d) dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*. Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste t (LSD) para os modos de aplicação e Teste F para os híbridos, ao nível de 5 % de probabilidade.

Não houve influência significativa dos modos de aplicação de *A. brasilense* e dos híbridos de milho para a razão de área foliar (RAF) que expressa a área em dm^2 que é usada para produzir 1g de matéria seca (Figura 8a e 8b), a área foliar específica (AFE) que reflete o inverso da espessura da folha (Figura 8c e 8d) e a razão da massa foliar (RMF), que expressa a matéria seca translocada da folha para outros órgãos do vegetal (Figura 8e e 8f).

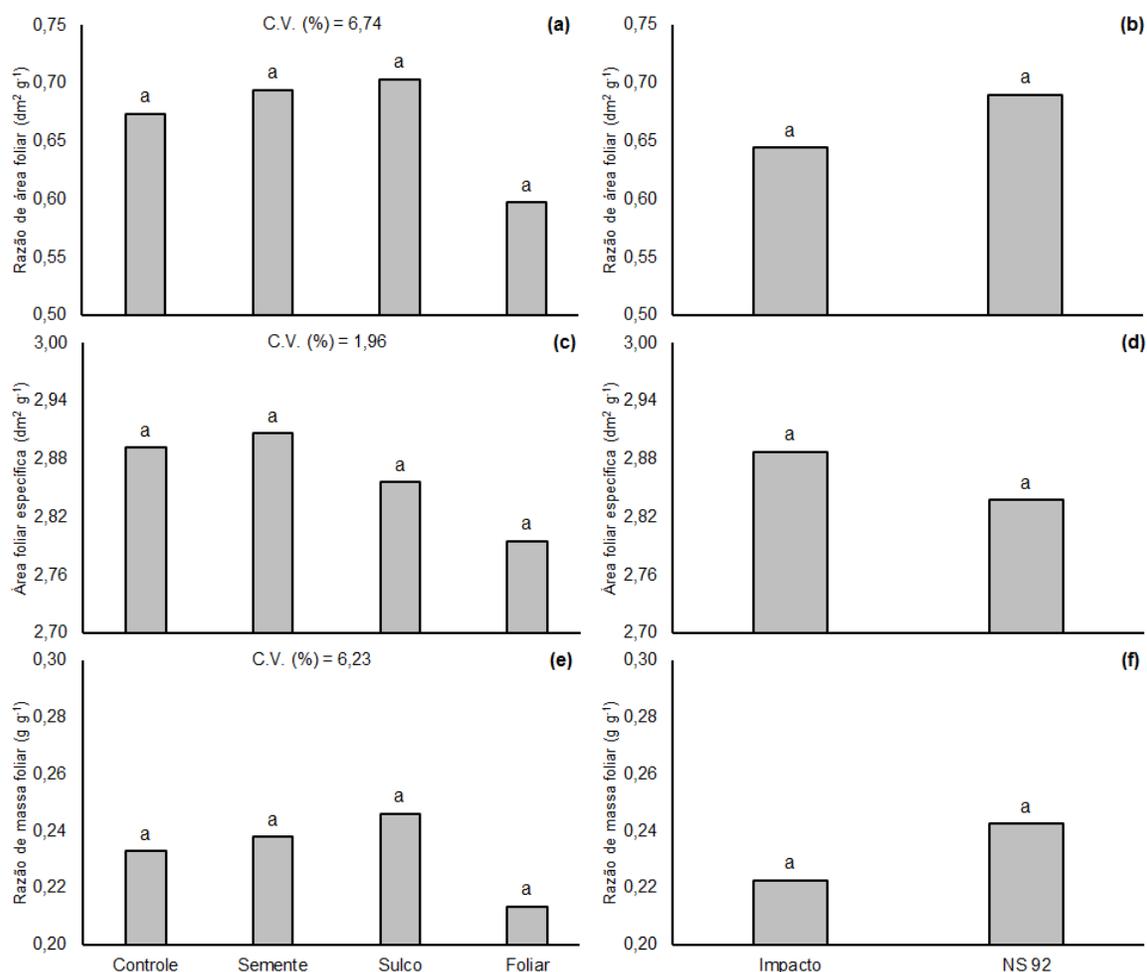


Figura 8. Razão de área foliar (a e b), área foliar específica (c e d) e razão de massa foliar (e e f) dos híbridos de milho Impacto e NS 92 com diferentes modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*. Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste t (LSD) para os modos de aplicação e Teste F para os híbridos, ao nível de 5 % de probabilidade.

Os fatores que interferem na resposta na cultura do milho ainda não foram satisfatoriamente elucidados. Porém alguns resultados encontrados na literatura destacam que para a obtenção de resultados positivo é necessário a associação de *Azospirillum* com a adubação nitrogenada, de modo que somente a bactéria não irá responder de forma positiva (ARAÚJO et al., 2013; HUNGRIA et al., 2011; GUIMARÃES et al., 2010). Alguns trabalhos destacam que o *Azospirillum* produz alguns fitohormônios que contribuem para o crescimento das plantas, entretanto, somente os fitohormônios não são suficientes para que ocorram respostas na planta inoculada. Também deve-se destacar que a resposta das plantas a

aplicação de *Azospirillum* é variável de genótipo para genótipo (GUIMARÃES et al., 2013; MARINI, 2012; DOTTO et al., 2010; REIS JUNIOR et al., 2008).

4. CONCLUSÕES

A aplicação de *Azospirillum brasilense* na semente reduziu a porcentagem de emergência e o índice de velocidade de emergência de plântulas de milho, dependendo do genótipo.

A aplicação de *A. brasilense* não resultou de forma geral em alterações no crescimento inicial do milho.

A resposta das plantas a aplicação de *A. brasilense* é variável, dependendo do genótipo de milho utilizado.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, E. O.; MERCANTE, F.M.; VITORINO, A. C. T.; NUMES, D. P.; PAIM, L. R.; MENDES, D. A. E. Produtividade do milho em resposta a aplicação de nitrogênio e à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*. In: XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 2013, Florianópolis-SC. **Resumos...** Florianópolis-SC: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2013, p. 1- 5.

ARAÚJO, R. M.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. V. B. Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.9, 2014.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41 p.

CICILIATO, A. L.; CASIMIRO, E. L. N. Inoculante *Azospirillum brasilense* via foliar associado a diferentes fertilizantes foliares na cultura do milho. **Revista cultivando o saber**, Cascavel-PR, Edição especial, p. 1-10, 2015.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; GONÇALVES, E. D. V.; SANDER, G.; PAULETTI, D. R.; OFFEMANN, L. C. Resposta do Milho à Inoculação Combinada com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* Associada à Adubação Nitrogenada. In: XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29, 2012, Aguas de Lindoia-SP. **Resumos...** Aguas de Lindoia-SP: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2012, p. 1621-1626.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. *Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande-PB, v.17, n.10, p.1023–1029, 2013.

DOTTO, A. P.; LANA, M. C.; STEINER, F.; FRANDOLOSO, J. F. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira Ciência Agrária**, Recife-PE, v.5, n.3, p.376-382, 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa do Solo. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2006. 306p.

GUIMARÃES, S. L.; CAMPOS, D. T. S.; BALDANI, V. L. D.; JACOB-NETO, J. Bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada em cultivares de arroz. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 04, p. 32-39, 2010.

GUIMARÃES, S. L.; MOREIRA, J. C. F.; SILVA, E. M. B.; POLIZEL, A. C.; SABINO, D. C. C. Características produtivas de plantas de milho inoculadas com

Azospirillum ssp. Cultivados em latossolo de cerrado. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, n.16; p. 558- 567, 2013.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum* brasileiro: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: EMBRAPA SOJA, 2011. 37p. (EMBRAPA SOJA. Documentos, 325).

JORDÃO, L.T.; LIMA, F.F.; LIMA, R.S.; MORETTI, P.A.E.; PEREIRA, H.V.; MUNIZ, A.S.; OLIVEIRA, M.C.N. **Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum* brasileiro sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária**. In: FERTBIO, 2010, Guarapari. Anais... 2014.

MAGUIRE, J. D. Speed germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**. Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MARINI, D. **Resposta de híbridos de milho á associação com *Azospirillum* brasileiro e adubação nitrogenada**. 2012. 59 p. Dissertação (Mestrado em Agonomia) – Universidade Estadual do Oeste do Parana, Campus Marechal Cândido Rondon, Marechal Cândido Rondon, 2012.

MELLO, N. **Inoculação de *Azospirillum* brasileiro nas culturas de milho e trigo**. 2012. 98 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal) - Universidade de Passo Fundo, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária do Campus Passo Fundo, Passo Fundo-RS, 2012.

MULLER, T. M.; BAZZANEZI, A. N.; VIDAL, V.; TUROK, J. D. N.; RODRIGUES, J. D.; SANDINI, I. E. Inoculação de *Azospirillum* brasileiro no Tratamento de Sementes e Sulco de Semeadura na Cultura do Milho. In: XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29, 2012, Aguas de Lindoia-SP. **Resumos...** Aguas de Lindoia-SP: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2012, p. 1665-1671.

NAVES, D C. F.; QUIRINO, G. S. F.; COSTA, R. R. G. F.; SANTOS, C. B.; COSTA, K. A. P. Efeitos do inoculante com estirpes de *Azospirillum brasiliense* nos caracteres de crescimento do milho safrinha. In: XV SIMBIO, 15, 2014, Quirinópolis-GO. **Resumos...** Quirinópolis: Universidade estadual de Goiás (UEG), 2014, p. 49- 54.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H. & QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais.** Campinas, Instituto Agrônômico, 2001. 284p.

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**, v. 32, n.3, p. 1139-1146, 2008.

REPKE, R. A.; CRUZ, S. J. S.; SILVA, C. J.; FIGUEIREDO, P. G.; BICUDO, S. J. Eficiência da *Azospirillum brasiliense* 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.

VERONA, D. A.; ZOZ, T.; ROSSOL, C. D.; DUARTE JUNIOR, J. B. Tratamento de sementes de milho com zeavit, stimulate e Inoculação com *Azospirillum* sp. In: XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010, Goiânia-GO. **Resumos...** Goiânia-GO: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. p. 3731- 3737.