

PRODUTIVIDADE DO MILHO COM A APLICAÇÃO DE *Azospirillum spp.* DIRETAMENTE NA CAIXA SEMEADORA

LUCAS CAIUBI PEREIRA¹, DANILO CESAR VOLPATO MARTELI²,
ALESSANDRO LUCCA BRACCINI¹, THAISA CAVALIERI MATERA¹,
MAYARA MARIANA GARCIA¹, ANDREIA KAZUMI SUZUKAWA¹, GLÁUCIA CRISTINA FERRI¹,
RENATA CRISTIANE PEREIRA¹, LARISSA VINIS CORREIA¹ e VANESSA FRANCIELI VITAL SILVA¹

¹Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá,
Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá -PR lucasciubi@yahoo.com.br, albraccini@uol.com.br,
thaisamatera@hotmail.com, garcia.mayaram@gmail.com, kazumi.s@gmail.com, ferriglaucia@hotmail.com,
rcpereira03091988@gmail.com, larissa.vinis@gmail.com, vfvitalsilva@gmail.com

²Bolsista de Iniciação científica, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900,
Maringá -PR danilomartelli@hotmail.com

Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.17, n.2, p. 229-239, 2018

RESUMO - A inoculação das sementes com *Azospirillum spp.* é uma prática que tem sido rotineiramente realizada no milho, sobretudo via formulação líquida. Todavia, as respostas relativas a outros modos de inoculação com diferentes formulações são, ainda, pouco conhecidas. Desta forma, objetivou-se com este trabalho avaliar a eficiência agrônômica de doses de *A. brasilense* em formulação polimérica em pó, aplicada diretamente na caixa semeadora, sobre os componentes da produtividade do milho. Para tanto, foi conduzido um ensaio em blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos consistiram de uma testemunha, dose total de N, ½ dose de N; ½ dose de N + inoculação comercial padrão e ½ dose de N + quatro doses de inoculante em pó (1, 2, 4 e 8 g kg⁻¹), aplicado na caixa semeadora. Foram avaliados os caracteres produtividade, números de fileira por espiga e de grãos por fileira, massa de mil grãos, matéria seca da parte aérea e teores de N nos grãos e na parte aérea. Nas condições testadas, a dose de 2 g kg⁻¹ de sementes do inoculante, quando associada à adubação nitrogenada de 90 kg ha⁻¹, apresentou superioridade no rendimento da cultura, ultrapassando, inclusive, a inoculação comercial com produto líquido.

Palavras-chave: *Zea mays*, fixação biológica, inoculante, rendimento.

MAIZE YIELD IN RESPONSE TO THE APPLICATION OF *Azospirillum spp.* INTO THE SEED TANK

ABSTRACT - Seed inoculation with *Azospirillum spp.* is a practice that has been routinely carried out in maize crop, especially via liquid formulation. However, responses concerning other methods of inoculation of different formulations are still poorly understood. The objective of this work was to evaluate the agronomic efficiency of the application of powder formulation of *Azospirillum brasilense* directly into the sowing box. For this purpose, a randomized block trial with 4 replications was carried out. The treatments tested consisted of absence of N fertilizer, the full N recommendation and a combination of the half of recommended N associated with the inoculation of four doses of *A. brasilense* (1, 2, 4 and 8 g kg⁻¹) in powder formulation. The following variables were evaluated: number of kernel per row, number of row per ear, shoot dry biomass, thousand seed weight, grain N content, shoot N content and grain yield. All treatments submitted to inoculation with the powder formulation showed higher yields than the treatment in which the total dose of N was applied. However, superior results were obtained for the treatment in which ½ dose of N was associated with the powder inoculant in the proportion of 2 g kg⁻¹ of seed.

Keywords: *Zea mays*, biological fixation, inoculant, productivity.

Assim como para a maioria das culturas, o nitrogênio (N) é considerado o nutriente limitante do rendimento do milho (Veras et al., 2016). A maioria dos solos brasileiros cultiváveis apresenta baixos teores disponíveis deste elemento, tornando a aplicação de adubos nitrogenados indispensável para obtenção de elevadas produtividades. No entanto, é notório que, pelo caráter dinâmico desse nutriente no solo, o seu aproveitamento pelas culturas é limitado. Veras et al. (2016) resumem que menos da metade do N mineral aplicado no solo é absorvido pelas plantas, sendo o restante imobilizado ou perdido por volatilização ou lixiviação.

Neste cenário, com base nas descobertas de Döbereiner e Day (1976) sobre a fixação de nitrogênio atmosférico (N₂) por bactérias do gênero *Azospirillum* spp., quando associado à rizosfera de plantas não leguminosas, inúmeros pesquisadores em biologia e fertilidade do solo têm procurado estudar como esta associação pode contribuir com a nutrição nitrogenada de gramíneas. A este respeito, aqueles autores concluíram que, por não realizarem a fixação biológica do N₂ (FBN) com alta eficiência como as leguminosas, as gramíneas precisam obter boa parte deste elemento via fertilizantes.

Em relação à cultura do milho, há inúmeras evidências de que a inoculação de sementes com *A. brasilense* é responsável pelo aumento da taxa de acúmulo de matéria seca (Döbereiner & Day, 1976; Bashan & De-Bashan, 2010), principalmente na presença da adubação nitrogenada (Hungria et al., 2010). Para outro cereal de grande importância econômica, o trigo, Dobbelaere et al. (1999) e Bashan e De-Bashan (2010) apontaram, ainda, uma melhor absorção de N em plântulas resultante do aumento dos pelos radiculares nas plantas inoculadas.

Trabalhos como os de Hungria et al. (2010) e Piccinin et al. (2015) permitem afirmar que a aplicação de N mineral, associada à inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. em formulação líquida ou turfosa, é prática consolidada e consagrada no manejo de culturas gramíneas como o milho. Contudo, a aplicação do inoculante diretamente na caixa de distribuição de sementes da máquina semeadora pode ser uma forma mais prática de inoculação. No entanto, a dose a ser aplicada, bem como a viabilidade desse tipo de tratamento devem, ainda, ser melhor esclarecidas.

O objetivo do presente trabalho foi, portanto, avaliar a eficiência agrônômica de diferentes doses do inoculante polimérico em pó à base de *Azospirillum brasilense*, aplicado diretamente na caixa de semeadura, associado à metade da dose de N mineral recomendada, em comparação com a inoculação padrão com inoculante comercial em formulação líquida via tratamento de sementes, sobre os componentes de rendimento e da produtividade da cultura do milho na safra de 2016/2017.

Material e Métodos

O presente ensaio foi conduzido em área localizada na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá (FEI-UEM), situada a uma latitude de 23°02' sul e longitude de 52°04' a oeste de Greenwich, com altitude média de 509 m. O clima predominante na região é do tipo Cfa, mesotérmico úmido, com chuvas abundantes no verão e inverno seco com verões quentes, segundo classificação de Köppen (Caviglione et al., 2000).

Por meio da estação meteorológica automática da FEI-UEM foi possível obter os dados climatológicos de precipitação acumulada e as temperaturas máximas e mínimas durante o ciclo da cultura (Figura 1).

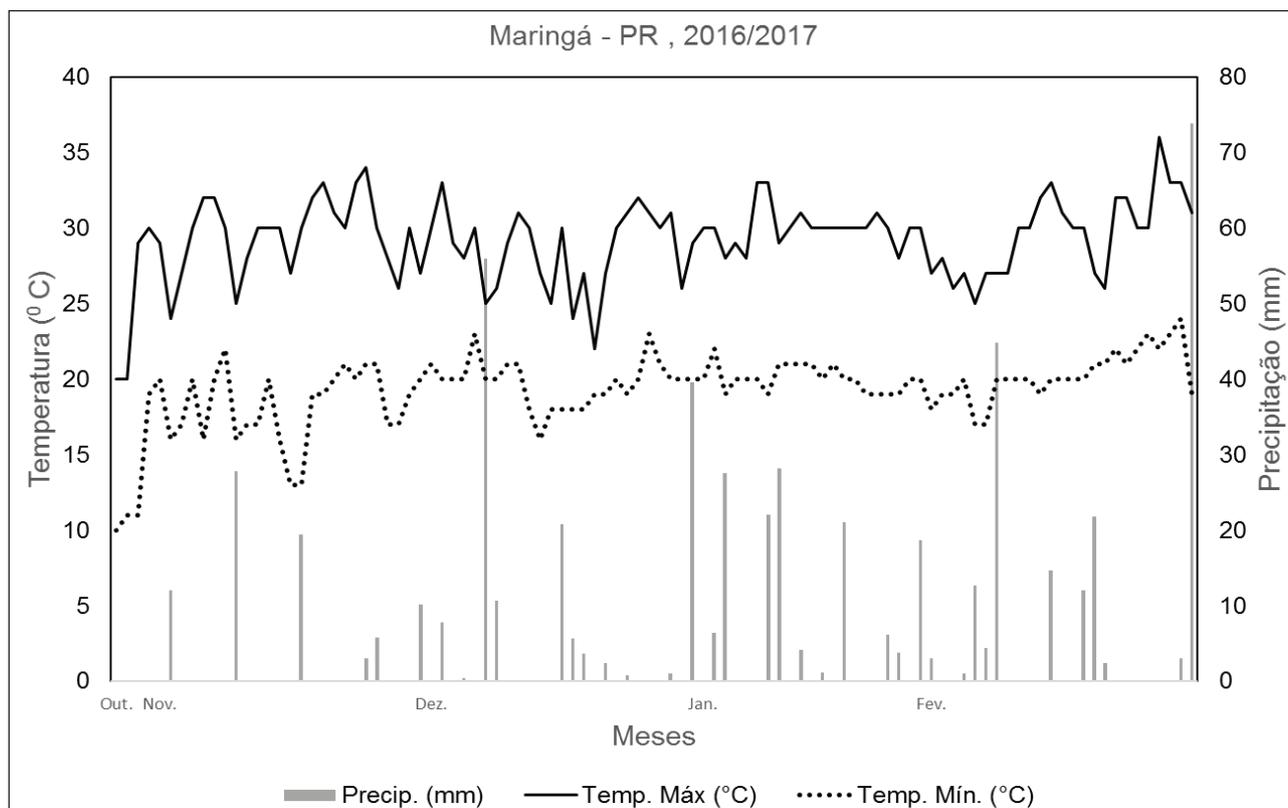


Figura 1. Dados climáticos diários da precipitação pluvial e temperaturas máximas e mínimas, de 28 de outubro de 2016 a 28 de fevereiro de 2017, na Fazenda Experimental de Iguatemi, em Maringá-PR, na safra de verão, com a cultura do milho.

Durante o ciclo da cultura, a precipitação pluvial acumulada foi de 559,8 mm e as temperaturas mínima e máxima do ar registradas foram, respectivamente de 36°C e 10°C (Figura 1), limites considerados adequados para o cultivo do milho na safra verão, de acordo com o zoneamento agroclimático para a região de Maringá (Brasil, 2017).

O experimento foi instalado em área cujo histórico de cultivo é baseado na sucessão entre as culturas da soja ou do milho no verão com a do trigo no inverno. O solo da área experimental é classificado como Argissolo Vermelho distroférico (Santos et al., 2013). Os resultados da análise química, na camada de 0-20 cm, antes da implantação do experimento

foram: pH (CaCl₂) = 4,80, P (Mehlich-1) = 6,18 mg dm⁻³, H⁺+Al³⁺ = 4,12 cmol_c dm⁻³, Al³⁺ = 0,10 cmol_c dm⁻³, K⁺ = 0,41 cmol_c dm⁻³, Ca²⁺ = 2,73 cmol_c dm⁻³, Mg²⁺ = 1,35 cmol_c dm⁻³, CTC = 8,61 cmol_c dm⁻³ e V = 52,13%. Em relação à análise granulométrica, para a mesma camada de 0-20 cm os resultados foram: 14,20% de areia grossa, 37,3 % de areia fina, 0,95 % de silte e 47,55% de argila.

Por se tratar de uma área previamente cultivada com espécies agrícolas passíveis de colonização natural ou por introdução humana por microrganismos fixadores de N₂, a população de bactérias diazotróficas foi previamente quantificada, atendendo aos requisitos do Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento (Brasil, 2011). Da área experimental, obtiveram-se três amostras de solo, compostas cada de cinco subamostras retiradas na profundidade de 0-10 cm. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, mantidas em caixas térmicas e transportadas ao laboratório no prazo máximo de 48 h, quando foram submetidas a contagem de bactérias diazotróficas obedecendo às diretrizes da instrução normativa contida em Brasil (2010). Os resultados desta contagem são apresentados na Tabela 1.

Tendo por base a análise físico-química do solo e considerando uma expectativa de produtividade de, aproximadamente, 10.000 kg ha⁻¹ (Pereira Filho, 2015), na base, a adubação foi realizada mecanicamente aplicando-se 40 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (superfosfato triplo, 41% de P₂O₅) e 80 kg ha⁻¹ de K₂O (Cloreto

de Potássio, 60% de K₂O). Adicionalmente, entre os estádios V5 e V6 (30 dias após a semeadura), 40 kg de K₂O ha⁻¹ foi aplicado em cobertura empregando-se como fonte o cloreto de potássio. Na adubação nitrogenada, empregou-se a ureia (45% de N), de maneira a fornecer a dose total recomendada de 180 kg de N ha⁻¹, ou a metade desta (90 kg de N ha⁻¹), de acordo com o descrito na Tabela 2. Em ambos os casos, 1/3 da adubação mineral nitrogenada foi realizada mecanicamente no plantio, enquanto que o restante, 2/3, foi manualmente aplicado em cobertura no estádio V4 (Fageria et al., 2011), 22 dias após a semeadura.

Em número de oito, os tratamentos constituíram de uma testemunha sem adubação mineral nitrogenada e sem inoculação, dois tratamentos não inoculados com dois níveis de adubação nitrogenada

Tabela 1. Resultados da análise de contagem de bactérias diazotróficas da área experimental antes da implantação da cultura do milho (Maringá – PR, 2016).

Identificação	Umidade do solo (%)	Bactérias totais (10 ⁷ UFC g ⁻¹ solo seco)	Bactérias diazotróficas (10 ⁶ UFC g ⁻¹ solo seco)
Amostra 1	16,94	7,02	9,91
Amostra 2	16,48	7,00	9,19
Amostra 3	17,40	6,88	8,30

UFC - Unidade formadora de colônias.

Tabela 2. Esquema detalhado dos tratamentos com diferentes doses de inoculante em pó à base de *A. brasilense*, associados a níveis de adubação com N.

Tratamento	Adubação Nitrogenada	Dose do inoculante	Formulação do Inoculante	Forma de inoculação
1	-	-	-	-
2	180	-	-	-
3	90	-	-	-
4	90	100 mL ha ⁻¹	Líquida	Tratamento de sementes
5	90	1 g kg ⁻¹	Pó (polimérico)	Caixa de distribuição ¹
6	90	2 g kg ⁻¹	Pó (polimérico)	
7	90	4 g kg ⁻¹	Pó (polimérico)	
8	90	8 g kg ⁻¹	Pó (polimérico)	

¹ Aplicação do inoculante na caixa semeadora, com homogeneização manual.

(180 e 90 kg ha⁻¹), uma inoculação comercial padrão (tratamento de sementes com produto comercial em formulação líquida) e de metade da adubação mineral nitrogenada (90 kg ha⁻¹), associada a quatro doses de *A. brasilense*, em formulação polimérica em pó (1, 2, 4 e 8 g kg⁻¹ de semente) (Tabela 2).

Na inoculação padrão (tratamento 4), empregou-se inoculante comercial líquido contendo uma concentração de 2×10^8 UFC por mililitros das estirpes AbV5 e AbV6 de *A. brasilense*. Por outro lado, o inoculante em pó testado foi à base de misturas poliméricas de carboximetilcelulose e amido, contendo igualmente a concentração de 2×10^8 UFC das estirpes AbV5 e AbV6 da bactéria por grama de produto.

A inoculação padrão das sementes foi realizada com a formulação líquida, momentos antes da semeadura (“on farm”). Para tanto, as sementes foram acondicionadas em sacos plásticos, onde receberam a dosagem descrita na Tabela 2. Em seguida, a fim de se obter uma distribuição homogênea do produto, as sementes foram agitadas por 1 minuto, aproximadamente. Em relação à formulação em pó, ao longo de 1 minuto, a homogeneização do produto com as sementes foi realizada manualmente, dentro da caixa de distribuição de sementes, sem a adição de qualquer agente adesivo.

O sistema de semeadura adotado foi o direto, sem irrigação. A semeadura foi realizada em 28 de outubro de 2016, utilizando-se o híbrido simples de milho AS 1596 VT PRO3, com uma densidade de, aproximadamente, oito plantas viáveis por metro linear, no espaçamento de 0,90 m entrelinhas. As sementes utilizadas foram previamente tratadas com o fungicida Vitavax-Thiran® 200 SC (carboxin + thiram), na dose de 250 mL 100 kg⁻¹ de sementes + Cropstar® (imidacloprido + tiodicarbe), na dose de 250 mL kg⁻¹.

A área experimental foi dessecada com 2,5 L ha⁻¹ do herbicida Glyphosate, associado com 1 L ha⁻¹ de 2,4-D-dimetilamina, mais 0,5 L ha⁻¹ de óleo mineral, 15 dias antes da semeadura (Pereira Filho, 2015). Durante o desenvolvimento da cultura foram realizadas capinas manuais e aplicações do herbicida Atrazina, na dose de 5 L ha⁻¹ e Tembotriona, na dose de 200 mL ha⁻¹. O controle de pragas e doenças, respeitado o nível de dano econômico, foi realizado com o uso dos seguintes tratamentos químicos: aplicação de Lufenurum a 100 mL ha⁻¹, Triflumuron a 30 mL ha⁻¹ e Beta-ciflutrina a 20 mL ha⁻¹ para o controle de vaquinhas, Endossulfan a 1.250 mL ha⁻¹ para o controle de pulgões e percevejos e aplicação de Azoxystrobin + Ciproconazole a 300 mL ha⁻¹ para a prevenção das seguintes doenças: mancha branca, mancha foliar, cercosporiose, ferrugem tropical, podridões do colmo e das raízes, podridões de espiga e grãos ardidos, podridão branca da espiga, podridão de fusarium, podridão de giberela, grãos ardidos e doenças sistêmicas como o enfezamento.

As parcelas experimentais foram compostas de sete linhas de 6 m, espaçadas de 0,90 m, atendendo às normas para avaliação de viabilidade e da eficiência agrônômica de inoculantes do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2011). Na colheita, realizada no dia 28 de fevereiro de 2017, foram eliminadas duas linhas externas de cada lado da parcela e 0,5 m de bordadura das linhas centrais. Na área restante, foram realizadas amostragens de plantas para a obtenção das variáveis relativas à massa seca, teor de nitrogênio na parte aérea e por fim, os dados de produtividade.

Para determinação da massa seca de parte aérea, 5 plantas por parcela foram aleatoriamente coletadas 60 dias após semeadura (estádio R1), etiquetadas e, a seguir, transportadas para o laboratório, onde

foram acondicionadas em sacos de papel kraft e levadas para secar em estufa com circulação forçada de ar a 65°C, até atingirem peso constante. Em relação à determinação do teor de nitrogênio, após secagem, as amostras foram moídas em moinho tipo “Willey” com peneira de 1 mm de diâmetro e submetidas a análise química do nutriente N, conforme a Association of Official Analytical Chemistry (2010).

Para avaliação das variáveis número de grãos por fileira e número de fileiras por espiga, no ponto de maturidade fisiológica completa, foram coletadas aleatoriamente 10 espigas por parcela para posterior contagem em laboratório. Neste mesmo estágio fisiológico, caracterizado por 95% das sementes apresentando formação da camada preta (Daynard & Duncan, 1969), a área útil das parcelas foi manualmente colhida; as espigas obtidas foram debulhadas em máquina debulhadora estacionária, obtendo-se, desta forma, uma massa de sementes que foi limpa com o auxílio de peneiras manuais e selecionador de impurezas digital e acondicionada em sacos de papel tipo kraft multifoliado. A partir da massa limpa de grãos, a produtividade foi obtida por meio de pesagem em balança analítica. O peso dos grãos foi corrigido para 13% de umidade, calculando-se posteriormente o rendimento de grãos em kg ha⁻¹.

O peso de mil grãos foi determinado pela pesagem de oito subamostras de 100 grãos para cada repetição de campo, com auxílio de balança analítica com precisão de um miligrama. Em seguida, obedecendo ao critério do coeficiente de variação inferior a quatro, os resultados foram multiplicados por 10, de acordo com Brasil (2009).

O delineamento experimental adotado foi em blocos completos casualizados com oito tratamentos e quatro repetições de campo. As variáveis analisadas foram submetidas à análise de variância a 5% de

probabilidade ($p < 0,05$) utilizando-se o sistema para análise estatística SISVAR (Ferreira, 2011). Quando o tratamento foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste LSD (*Least significance difference*) de Fisher, escolhido por permitir comparar todos os pares possíveis de médias, através de múltiplos testes t.

Resultados e Discussão

A análise de variância dos dados revelou efeito significativo ($p < 0,05$) entre os tratamentos de inoculação das sementes de milho, para todas as variáveis respostas analisadas, ou seja, a produtividade, o número de fileira por espiga, o número de grãos por fileira, a massa de mil grãos, a matéria seca da parte aérea e os teores de nitrogênio nos grãos e na parte aérea.

Nas Tabelas 3 e 4, observa-se que a associação do *A. brasilense* nas doses testadas nos tratamentos 4, 5, 6 e 7, com $\frac{1}{2}$ da dose de N mineral, proporcionou resultados estatisticamente superiores para as variáveis massa seca da parte aérea, número de grãos por fileira, número de fileiras por espiga, teores de nitrogênio na parte aérea e nos grãos, massa de mil grãos e produtividade, comparativamente ao tratamento 2, em que somente a dose total da adubação nitrogenada foi aplicada. Comportamento distinto pôde ser observado para as médias obtidas nas variáveis massa seca parte de aérea, número de grãos por fileira, número de fileiras por espiga e teor de nitrogênio nos grãos do tratamento 8 ($\frac{1}{2}$ N + inoculante em pó na dose de 8 g kg⁻¹), que apresentou valores equivalentes aos observados no tratamento 2.

Nas Tabelas 3 e 4 observa-se, ainda, que dentre os oito tratamentos avaliados o tratamento 6 ($\frac{1}{2}$ N + inoculante em pó na dose de 2 g kg⁻¹) foi aquele que

promoveu o maior incremento numérico em todas as variáveis respostas analisadas (massa seca da parte aérea, número de grãos por fileira, número de fileiras por espiga, teores de nitrogênio na parte aérea e nos grãos, massa de mil grãos e produtividade). Por outro lado, resultados inferiores foram observados nos tratamentos 1 (testemunha absoluta) e 3 (½ da dose de N).

A partir das médias constantes nas Tabelas 3 e 4, observa-se que a utilização de metade da recomendação de N mineral, associada à utilização do inoculante em pó nas doses de 1 e 2 g kg⁻¹ (tratamentos 5 e 6, respectivamente), proporcionaram acréscimos nos componentes de rendimento, produtividade e teor de nitrogênio da cultura, comparativamente ao tratamento em que a dose total de N foi empregada (tratamento 2), ou mesmo, àquele em que se associou metade da adubação nitrogenada com a formulação comercial da bactéria (tratamento 4). Com base em Garcia et al. (2017), é possível sugerir que os resultados superiores dos tratamentos 5 e 6 se devem ao maior desenvolvimento do sistema radicular promovido pelas bactérias inoculadas, que permitiram à cultura explorar um maior volume de solo e, conseqüentemente, propiciar maior absorção das nutrientes, entre os quais o N.

Com exceção do tratamento 8 (½ N + 8 g kg⁻¹ de inoculante em pó), que não apresentou diferença estatística com o tratamento 2 (dose total de N), independentemente da natureza da formulação de *A. brasilense*, as parcelas inoculadas apresentaram teores de nitrogênio na parte aérea e nos grãos superiores aos observados na testemunha (tratamento 1), bem como, àqueles obtidos quando a dose total de N (tratamento 2) ou metade desta (tratamento 3) foi empregada (Tabela 4). Comportamento semelhante foi descrito por Piccinin et al. (2015).

Tais resultados tornam-se relevantes, uma vez que a inoculação com *A. brasilense* possibilita ao agri-

cultor otimizar sua lucratividade, sobretudo em razão do menor custo do inoculante, comparativamente aos fertilizantes nitrogenados. Todavia, não se pode creditar os resultados superiores dos tratamentos inoculados, sobretudo do tratamento 6, à capacidade de FBN pelas bactérias, uma vez que *Azospirillum spp.* são também capazes de produzir substâncias de reconhecida ação na expansão das células vegetais (Bashan & De-Bashan, 2010).

A este respeito é sabido que os mecanismos de promoção de crescimento vegetal pelo gênero *Azospirillum* podem ser diretos e indiretos. Os diretos dizem respeito à disponibilização de N às plantas, por meio da FBN, ao passo que os indiretos estão relacionados à liberação de ácidos orgânicos, que solubilizam formas precipitadas de fósforo, ou, ainda, à produção substâncias que influenciam positivamente o vegetal (Bashan & De-Bashan, 2010).

Segundo Kappes et al. (2013), tais substâncias constituem os fitormônios, os quais, de acordo com Döbereiner e Day (1976) e Dobbelaere et al. (1999), interferem no ciclo do vegetal, alterando beneficamente a morfologia das raízes. Dobbelaere e Okon (2007) apontam, ainda, que essas substâncias estariam ainda relacionadas à indução sistêmica de resistência a doenças ou à produção de compostos orgânicos que, por exemplo, captam ferro.

Todavia, Reis Júnior et al. (2008) advertem que o sucesso da FBN e da síntese desses reguladores de crescimento vegetais, decorrentes da presença de *A. brasilense* no solo, variam em função da maneira como eles são reconhecidos pelo genótipo hospedeiro, bem como, com as características do substrato.

Em relação à variável resposta produtividade de grãos (Tabela 4), novamente os tratamentos com inoculante (independentemente da formulação ou da dose) mostraram-se superiores ao tratamento 2 (dose

Tabela 3. Resultados médios da massa seca da parte aérea (MSPA), número de grãos por fileira (NGF) e número de fileiras por espiga (NFE) do híbrido AS 1596 VT PRO3, em resposta às diferentes doses de inoculante em pó à base de *A. brasilense*, associadas à metade ($\frac{1}{2}$ N) da adubação nitrogenada (90 kg ha^{-1}), em comparação à inoculação padrão ($\frac{1}{2}$ N + inoculante comercial líquido) e à dose total de N recomendada (180 kg ha^{-1}) para a cultura do milho (Maringá – PR, 2016/2017).

Tratamentos	Descrição	MSPA (g planta ⁻¹)	NGF (unid. fil ⁻¹)	NFE (unid. esp ⁻¹)
1	Testemunha absoluta	126,43 G	23,80 G	15,35 G
2	N total	170,76 E	27,35 E	16,60 E
3	$\frac{1}{2}$ N	153,69 F	25,55 F	16,00 F
4	$\frac{1}{2}$ N + inoculação padrão (líquida)	197,91 D	29,15 CD	17,20 CD
5	$\frac{1}{2}$ N + 1 g kg ⁻¹ de inoculante em pó	266,54 B	30,95 B	17,65 B
6	$\frac{1}{2}$ N + 2 g kg ⁻¹ de inoculante em pó	311,18 A	33,00 A	18,60 A
7	$\frac{1}{2}$ N + 4 g kg ⁻¹ de inoculante em pó	221,78 C	29,95 BC	17,30 BC
8	$\frac{1}{2}$ N + 8 g kg ⁻¹ de inoculante em pó	179,26 E	28,15 DE	16,90 DE
	Média	203,44	28,49	16,95
	C.V (%)	15,44	13,70	11,55

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste t (LSD).

Tabela 4. Resultados médios dos teores de nitrogênio na parte aérea (TNPA) e nos grãos (TNG), massa de mil grãos (MMG) e produtividade (PROD) do híbrido AS 1596 VT PRO3, em resposta às diferentes doses de inoculante em pó à base de *A. brasilense*, associadas à metade ($\frac{1}{2}$ N) da adubação nitrogenada (90 kg ha^{-1}), em comparação à inoculação padrão ($\frac{1}{2}$ N + inoculante comercial líquido) e à dose total de N recomendada (180 kg ha^{-1}) para a cultura do milho (Maringá – PR, 2016/2017).

Tratamentos	Descrição	TNPA (%)	TNG (%)	MMG (g)	PROD (kg ha ⁻¹)
1	Testemunha absoluta	16,60 G	9,70 F	235,78 G	5.968,75 H
2	N total	19,75 E	10,58 DE	261,45 E	8.711,81 F
3	$\frac{1}{2}$ N	18,93 F	10,38 E	252,54 F	7.572,92 G
4	$\frac{1}{2}$ N + inoculação padrão (líquida)	22,10 C	11,38 C	284,78 C	10.989,58 D
5	$\frac{1}{2}$ N + 1 g kg ⁻¹ de inoculante em pó	21,13 B	12,15 B	302,83 B	13.795,14 B
6	$\frac{1}{2}$ N + 2 g kg ⁻¹ de inoculante em pó	24,05 A	12,93 A	314,61 A	15.968,75 A
7	$\frac{1}{2}$ N + 4 g kg ⁻¹ de inoculante em pó	22,53 BC	11,80 B	295,95 B	12.432,29 C
8	$\frac{1}{2}$ N + 8 g kg ⁻¹ de inoculante em pó	21,15 D	10,84 D	272,83 D	9.858,83 E
	Média	21,03	11,21	277,59	10.662,25
	C.V (%)	12,01	12,15	12,01	13,96

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste t (LSD).

total de N), com destaque positivo para o tratamento 6 ($\frac{1}{2}$ N + 2 g kg⁻¹ de inoculante em pó). Esses resultados corroboram os resultados obtidos por Hungria et al. (2010), os quais, trabalhando com as estirpes AbV5 e AbV6 de *A. brasilense*, em veículo líquido, obtiveram aumentos de até de 26% na produtividade do milho.

Para todas as variáveis analisadas, ou seja, a massa seca da parte aérea, o número de grãos por fileira, o número de fileiras por espiga, os teores de nitrogênio na parte aérea e nos grãos, a massa de mil grãos e a produtividade (Tabelas 3 e 4), o tratamento 6 ($\frac{1}{2}$ N + inoculante em pó na dose de 2 g kg⁻¹ de sementes) apresentou superioridade sobre os demais, incluindo, portanto, a inoculação padrão com produto líquido comercial (tratamento 4). Desta forma, de modo semelhante ao registrado para a bactéria *Bradyrhizobium japonicum* inoculada na cultura do feijoeiro (Fernandes Júnior et al., 2009), a formulação em pó de *A. brasilense*, à base de polímeros, constituiu um veículo eficiente para as estirpes AbV5 e AbV6, com efeito positivo para as doses de 1 g kg⁻¹ e 2 g kg⁻¹, que em associação a metade da recomendação de N para a cultura do milho, superaram o padrão comercial (tratamento 4).

A associação de 90 kg de N ha⁻¹ com *A. brasilense*, nas doses de 1, 2 e 4 g de inoculante kg⁻¹ de sementes (tratamentos 5, 6 e 7, respectivamente) superaram a média de produtividade obtida no tratamento padrão (tratamento 4) (Tabela 4). Sugere-se que tais resultados se devem às características físicas do inoculante (veículo em pó a base de polímeros, sem uso de agente adesivo na aplicação), que não comprometeu a viabilidade das estirpes testadas, diferentemente de formulações bacterianas líquidas ou turfosas, que por meio do molhamento da massa de sementes potencializam os efeitos de-

letérios dos ingredientes ativos sobre as estirpes do inoculante (Zilli et al., 2010).

Em relação aos resultados inferiores observados no tratamento 8 ($\frac{1}{2}$ N + 8 g kg⁻¹ de inoculante), Saubidet et al. (2002) sugerem que uma elevada população de bactérias associada a uma restrição de N mineral é capaz de comprometer a liberação de exsudados da raiz, sinais químicos indispensáveis ao sucesso da colonização da rizosfera por bactérias diazotróficas. Adicionalmente, de encontro ao apontado em Garcia et al. (2017), é igualmente oportuno sugerir que com o uso de metade da adubação nitrogenada, os níveis de carboidratos sintetizados pelas plantas no tratamento 8 podem não ter atingido o patamar necessário ao pleno estabelecimento da associação simbiótica planta-bactéria, uma vez que, com o aumento da população de bactérias (8 g kg⁻¹), um aporte de N mineral maior que 90 kg ha⁻¹ pode ser indispensável para se atingir rendimentos elevados.

Conclusões

A inoculação das sementes com *A. brasilense*, associada à meia dose de nitrogênio mineral, assegurou resultados superiores de componentes do rendimento e produtividade na cultura do milho, inclusive ao sistema de produção em que o aporte daquele elemento se dá exclusivamente via fertilização mineral.

Associado a uma adubação nitrogenada da ordem de 90 kg ha⁻¹, o emprego de 2 g kg⁻¹ de sementes de inoculante polimérico em pó, contendo *A. brasilense*, aplicado na caixa da semeadora, apresentou superioridade no rendimento de grãos do milho, superando, até mesmo, os resultados obtidos com a inoculação padrão com produto comercial em formulação líquida.

Referências

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 18. ed. Washington, 2010. 1115 p.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth – a critical assessment. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 108, p. 77-136, 2010.
DOI: [10.1016/S0065-2113\(10\)08002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)08002-8).
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 2009. 395 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 30, de 12 de novembro de 2010. Estabelece os métodos oficiais para análise de inoculantes, sua contagem, identificação e análise de pureza. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 17 nov. 2010. Seção 1, p. 4-10.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 13, de 24 de março de 2011. Aprova as normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura, bem como as relações dos microrganismos autorizados e recomendados para produção de inoculantes no Brasil. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 25 mar. 2011. Seção 1, p. 3-7.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 68, de 27 de julho de 2017. Zoneamento agrícola de risco climático para a cultura de milho 1ª safra no Estado do Paraná, ano-safra 2017/2018. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 31 jul. 2017.
- CAVIGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2000.
- DAYNARD, T. B.; DUNCAN, W. G. The black layer and grain maturity in corn. **Crop Science**, Madison, v. 9, n. 4, p. 473-476, 1969.
DOI: [10.2135/cropsci1969.0011183X000900040026x](https://doi.org/10.2135/cropsci1969.0011183X000900040026x).
- DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; TRYS, A.; VANDE BROEK, A.; VANDERLEYDEN, J. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. **Plant and Soil**, The Hague, v. 212, n. 2, p. 153-162, 1999. DOI: [10.1023/A:1004658000815](https://doi.org/10.1023/A:1004658000815).
- DOBBELAERE, S.; OKON, Y. The plant growth-promoting effect and plant responses. In: ELMERICH, C.; NEWTON, W. E. (Ed.). **Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations**. Berlin: Springer, 2007. p. 145-170. (Nitrogen Fixation: Origins, Applications, and Research Progress, v. 5).
DOI: [10.1007/1-4020-3546-2_7](https://doi.org/10.1007/1-4020-3546-2_7).
- DÖBEREINER, J.; DAY, J. M. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN FIXATION, 1., 1976, Washington, D.C. **Proceedings...** Washington: State University Press, 1976. p. 518-538.
- DOMINGUES NETO, F. J.; YOSHIMI, F. K.; GARCIA, R. D. G.; MIYAMOTO, Y. R.; DOMINGUES, M. C. S. Desenvolvimento e produtividade do milho verde safrinha em resposta à aplicação foliar com *Azospirillum brasilense*. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 1030-1040, 2013.
- FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; JONES, C. A. Corn. In: FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; JONES, C. A. (Ed.). **Growth and mineral nutrition of field crops**. 3 ed. Madison: Marcel Decker, 2011. p. 313-342.
- FERNANDES JÚNIOR, P. I.; ROHR, T. G.; OLIVEIRA, P. J.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. Polymers as carriers for rhizobial inoculant formulations. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 9, p. 1184-1190, 2009.
DOI: [10.1590/S0100-204X2009000900017](https://doi.org/10.1590/S0100-204X2009000900017).

- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
DOI: [10.1590/S1413-70542011000600001](https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001).
- GARCIA, M. M.; PEREIRA, L. C.; BRACCINI, A. L.; ANGELOTTI, P.; SUZUKAWA, A. K.; MARTELI, D. C. V.; FELBER, P. H.; BIANCHETTI, P. A.; DAMETTO, I. B. Effects of *Azospirillum brasilense* on growth and yield components of maize grown at nitrogen limiting conditions. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 40, n. 2, p. 353-362, 2017. DOI: [10.19084/RCA16101](https://doi.org/10.19084/RCA16101).
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M. S.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, The Hague, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.
DOI: [10.1007/s11104-009-0262-0](https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0).
- KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; DAL BEM, J. 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. DOI: [10.5433/1679-0359.2013v34n2p527](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n2p527).
- PEREIRA FILHO, I. A. (Ed.). **Cultivo do milho**. 9. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de Produção, 1). Disponível em: <https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaoof6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=7905&p_r_p_-996514994_topicoId=8658>. Acesso em: 13 mar. 2018.
- PICCININ, G. G.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; SUZUKAWA, A. K.; DAN, L. G. M.; GODINHO, F. B. Agronomic performance of maize in response to seed inoculation with *Azospirillum brasilense* associated with nitrogen doses and bioregulator. **International Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 13, n. 3/4, p. 67-73, 2015.
- REIS JÚNIOR, 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, MG, v. 32, n. 3, p. 1139-1146, 2008.
DOI: [10.1590/S0100-06832008000300022](https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000300022).
- SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. de. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 353 p.
- SAUBIDET, M. I.; FATTA, N.; BARNEIX, A. J. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 245, n. 2, p. 215-222, 2002.
DOI: [10.1023/A:1020469603941](https://doi.org/10.1023/A:1020469603941).
- VERAS, M. D. S.; RAMOS, M. L. G.; OLIVEIRA, D. N. S.; FIGUEIREDO, C. C. D.; CARVALHO, A. M. D.; PULROLNIK, K.; SOUZA, K. W. D. Cover crops and nitrogen fertilization effects on nitrogen soil fractions under corn cultivation in a no-tillage system. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 40, p. 1-12, 2016.
DOI: [10.1590/18069657rbcS20150092](https://doi.org/10.1590/18069657rbcS20150092).
- ZILLI, J. E.; CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-semeadura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 45, n. 3, p. 335-338, 2010.
DOI: [10.1590/S0100-204X2010000300015](https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010000300015).