

RESPOSTA DA INOCULAÇÃO COM *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* NAS CULTURAS DE TRIGO E DE MILHO SAFRINHA*Response of inoculation with Azospirillum brasilense in wheat and corn of second crop*Gilmar Luiz Mumbach^{1*}, Ivan Enrique Kotowski², Fabio José Andres Schneider³, Micael Stolben Mallmann³, Élcio Bilibio Bonfada¹, Valéria Ortaça Portela³, Éverson Bilibio Bonfada⁴, Douglas Rodrigo Kaiser⁵

¹ Doutorandos em Ciência do Solo; departamento de Solos do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, na Avenida Luís de Camões, 2090, bairro Conta Dinheiro, CEP: 88520-000 Lages/SC, Brasil; gilmarmumbach@hotmail.com (autor para correspondência*).

² Engenheiro Agrônomo, CEP: 98898-000, Ubiretama/RS, Brasil.

³ Doutorandos em Ciência do Solo, departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria.

⁴ Mestrando em Agronomia; Universidade de Passo Fundo.

⁵ Professor do curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Cerro Largo/RS.

Artigo enviado em 28/03/2017, aceito em 28/04/2017 e publicado em 07/07/2017.

Resumo - O objetivo do estudo foi avaliar a eficiência agrônômica da inoculação de sementes de trigo e de milho com *Azospirillum brasilense*, em associação à adubação nitrogenada. Sete tratamentos foram avaliados, associando a inoculação com aplicação de nitrogênio (N), sob delineamento de blocos ao acaso, com 4 repetições, totalizando 28 unidades experimentais com área individual de 27,2 m². Na cultura do trigo foi avaliado o número de perfilhos por planta, número de espigas por metro quadrado, número de grãos por espiga, rendimento de massa seca e grãos, massa de mil grãos e peso hectolitro. No milho foi analisado o diâmetro de colmo, área foliar, índice de área foliar, altura de plantas, rendimento de grãos, massa de mil grãos, diâmetro e comprimento de espigas. Os resultados demonstraram que a inoculação não representou ganhos nos diferentes atributos avaliados. A associação da inoculação com adubação com N mineral aumentou a produtividade e a produção de matéria seca. A redução pela metade da adubação de N em cobertura, quando associada à inoculação, não afetou a resposta das culturas nos diferentes atributos avaliados. Conclui-se que a inoculação apresenta boa resposta nas culturas de trigo e milho quando associada à adubação nitrogenada.

Palavras-chave: inoculação, produtividade, *Triticum aestivum*, *Zea Mays*.

Abstract - The aim of the study was to evaluate the agronomic efficiency of wheat seed inoculation and corn with *Azospirillum brasilense*, in combination with nitrogen fertilization. Seven treatments were evaluated, involving inoculation with nitrogen (N), under design of a randomized block design with four replications, totaling 28 experimental units with individual area of 27,2 m². In wheat crop was rated the number of tillers per plant, number of ears per square meter, number of grains per spike, dry matter yield and grain, thousand grain weight and hectoliter weight. Maize was analyzed the stem diameter, leaf area, leaf area index, plant height, grain yield, thousand grain weight, diameter and length of spikes. The results showed that inoculation did not represent gains in different attributes evaluated. The association inoculation with fertilization with mineral N increased productivity and production of dry matter. The reduction by half of the fertilizer nitrogen in when associated with inoculation did not affect the response of crops in different attributes evaluated. It is concluded that the inoculation presents good response in wheat and corn crops when associated with nitrogen fertilization.

Keywords: *Zea Mays*, *Triticum aestivum*, Inoculation, Yield.

INTRODUÇÃO

O acréscimo em rendimento de uma determinada cultura provém da associação de diversos fatores, desde a utilização de cultivares adaptadas às condições locais, boa fertilidade do solo, manejo rigoroso de pragas e doenças. Um dos fatores relevantes para ganhos em produtividade está no manejo adequado da adubação nitrogenada, principalmente devido ao fato deste elemento ser absorvido em grandes quantidades,

garantindo assim as melhores respostas em termos de rendimento.

A adubação com fertilizantes industrializados sintéticos é a prática mais comum para o suprimento de nitrogênio (N) às culturas agrícolas. Apesar de apresentar alta solubilidade, e consequentemente rápida disponibilidade à absorção, é um nutriente com grandes potências de perdas no ambiente (TEIXEIRA FILHO et al., 2010) e, consequentemente, grandes quantidades do nutriente são necessárias às culturas, principalmente às gramíneas, o que eleva os custos de produção. Como

alternativa ao N na forma sintética, há a possibilidade da utilização de inoculantes à base de bactérias fixadoras de N, principalmente do gênero *Azospirillum* (MILLÉO & CRISTÓFOLI, 2016).

Dentre as bactérias pertencentes ao gênero *Azospirillum*, a de maior potencial é a *Azospirillum brasilense*, havendo inoculantes comercializados no Brasil contendo essa bactéria. A bactéria pode gerar diversos estímulos para o crescimento das plantas, destacando-se a fixação biológica de N (FUKAMI et al., 2016), produção de hormônios vegetais como auxinas, giberelinas e citocininas (CAVALLET et al. 2000), solubilização de fosfato, maior desenvolvimento radicular (KAZI et al., 2016), aumento nos teores de clorofila e condutância estomática (HUNGRIA 2011), além de alterações na atividade fotossintética das plantas (GORDILLO-DELGADO et al., 2016). Ainda, quando crescem dentro da planta, podem aumentar a atividade da enzima nitrato redutase (HUNGRIA, 2011).

Muitos trabalhos apresentam, quando realizada a inoculação, ganhos em rendimento ou possibilidade da redução das dosagens de N aplicadas, sem haver perdas em produtividade (CAVALLET et al. 2000; HUNGRIA et al., 2010; CORASSA et al., 2013). Em outros trabalhos, contudo, a fixação biológica consegue suprir apenas parte do N necessário (KUKAMI et al., 2016), sendo a adubação nitrogenada indispensável para a obtenção de bons resultados (Morais et al., 2016). Além disso, há casos onde a simples inoculação permite a obtenção de bons rendimentos ou de ganhos em crescimento das culturas (GARCÍA-OLIVERAS, 2012; BRUM et al., 2016; MARTINEZ et al., 2016). A não obtenção de qualquer ganho pela inoculação também é relatada na literatura (REPKE et al., 2013).

A inoculação de plantas não-leguminosas pode suprir, pelo menos em parte, a necessidade de N das culturas, permitindo, em certos casos, reduzir as doses no nutriente aplicadas em cobertura. Contudo, a viabilidade agrônômica dessa prática, nos solos do Noroeste do Rio Grande do Sul, ainda precisa ser melhor avaliada. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a resposta agrônômica de inoculante a base da bactéria *Azospirillum brasilense* em associação à adição de N em diferentes estágios das culturas do trigo e do milho safrinha.

MATERIAL E MÉTODOS

Para atender aos objetivos propostos, foi conduzido um experimento, na safra agrícola de 2014/2015, no município de Cerro Largo, região Noroeste do estado do Rio Grande do Sul, em área cujas coordenadas são 28° 08' 26,63" de latitude e 54° 45' 38,29" de longitude, e uma altitude de 258 metros. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é o Cfa, ou seja, clima subtropical com verão quente. A pluviosidade anual é elevada nos municípios da região, variando entre 1500 e 1700 milímetros. O solo da área experimental pertence à Unidade de Mapeamento Santo Ângelo, classificado como

Latossolo Vermelho distroférico típico (EMBRAPA, 2013), possuindo 581 g kg⁻¹ de argila, 325 g kg⁻¹ de silte e 94 g kg⁻¹ de areia. A área onde a cultura foi implantada vem sendo conduzida sob plantio direto a mais de 20 anos e nos últimos 3 anos permaneceu sob pousio, sem nenhum tipo de manejo agrícola.

Em fevereiro de 2014 realizou-se a coleta de amostras do solo, na camada de 0,0-0,2 m de profundidade, para a caracterização química da área. O solo apresentou pH (H₂O) 5,2 e pH (SMP) 6,1; Ca, Mg, Al, H+Al e CTC_{pH7} de 9,3, 2,6, 0,1, 3,9 e 16,8 cmol_c dm⁻³, respectivamente; 76,9%, de Saturação de Bases, 3% de matéria orgânica; 57% de argila, P e K 18,9 e 384 mg dm⁻³, respectivamente.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com 7 tratamentos e 4 repetições, totalizando 28 unidades experimentais, onde cada parcela possuía uma área total de 27,6 m². Os 7 tratamentos testados são assim descritos: T1 – inoculação das sementes e sem N mineral; T2 – duas vezes a dose de inoculante nas sementes e sem N mineral; T3 – inoculação das sementes + N mineral na semeadura; T4 – inoculação das sementes + N mineral na semeadura + N mineral em cobertura; T5 – inoculação das sementes + N mineral na semeadura + ½ N mineral em cobertura; T6 – N mineral na semeadura + N mineral em cobertura; T7 – testemunha sem N mineral e sem inoculação. A dose de N aplicadas em semeadura foi de 20 kg para o trigo e 30 kg para o milho, enquanto em cobertura foram aplicados 70 kg para o trigo (35 kg para o tratamento T5) e 90 kg para o milho (45 kg para o tratamento T5).

A inoculação das sementes, para as duas culturas, foi realizada no mesmo dia da semeadura. As doses utilizadas foram 100 mL do produto para cada 25 kg de sementes de trigo e para cada 20 kg de milho. A concentração do inoculante utilizado foi de 2x10⁸ Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mL do produto comercial.

A cultura do trigo, cultivar Tbio Sintonia, foi semeada no dia 2 de julho de 2014. O processo de semeadura foi totalmente manual, com densidade de semeadura de 400 sementes/m². A adubação de base foi calculada segundo o Manual de recomendação de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CQFS-RS/SC, 2004), a partir dos dados da análise química descrita acima, objetivando um rendimento de 3 Mg há⁻¹ de grãos. As fontes de fertilizantes utilizadas para o suprimento de N, P e K foram a ureia, superfosfato triplo e cloreto de potássio, respectivamente. A aplicação de N em cobertura ocorreu quando a cultura iniciou seu perfilhamento.

Para avaliar os possíveis efeitos do inoculante sobre a cultura do trigo, foram avaliados: número de perfilhos, matéria seca da parte aérea, número de grãos por espiga, espigas por metro quadrado, produtividade, massa de mil grãos e peso hectolitro. O perfilhamento foi avaliado através de contagem do número de plantas e número total de perfilhos em um metro linear de cada parcela. Para determinação da matéria seca foram

coletadas as plantas de três metros lineares por parcela, com posterior secagem em estufa à temperatura de 60°C até peso constante; os valores encontrados na pesagem foram convertidos para a unidade de kg há⁻¹. O número de grãos por espiga foi avaliado através da coleta aleatória de 10 espigas por parcela, que passaram por debulha manual e posterior contagem. Para o número de espigas por metro quadrado foram contados dois metros lineares de planta, em cada parcela. A avaliação da produtividade do trigo realizou-se através da coleta das espigas de 6 fileiras centrais de cada parcela, eliminando as bordas, em área útil de 3,06 m² por parcela, com correção do rendimento para 13% de umidade. Para a avaliação de massa de mil grãos foram contabilizadas 200 sementes em cada tratamento, com o valor multiplicado por 10. Para avaliação do peso hectolitro determinou-se a massa de grãos em 250 mL, expressa em kg hL⁻¹, utilizando balança específica.

A semeadura do milho foi realizada em sucessão ao trigo, nos dias 12 e 13 de janeiro de 2015. O processo de deposição das sementes e dos fertilizantes ocorreu totalmente de forma manual. Foram utilizadas 4 sementes por metro linear, em um espaçamento entre linhas de 0,45 metros, totalizando uma média de 88 mil plantas por hectare. A cultivar de milho utilizada foi a 2B 688 PW, da empresa Dow AgroSciences. A adubação foi realizada de forma similar ao utilizado para o trigo, seguindo a recomendação para a cultura do milho. O N em cobertura foi aplicado quando a cultura atingiu o estágio V6.

Na cultura do milho foram analisados: altura de plantas, diâmetro de colmo, área foliar, índice de área foliar, produtividade, massa de mil grãos, comprimento e diâmetro de espigas. Para a avaliação de altura de plantas e da altura de espigas foi utilizada uma trena métrica, medindo desde a superfície do solo até a inserção (aurícula) da última folha formada (verdadeira), e desde a superfície do solo até a base da primeira espiga, respectivamente. Diâmetros de colmo foram medidos utilizando um paquímetro digital. As medições foram feitas a cerca de 15 cm do solo, realizando duas medições sob dois lados do colmo e, posteriormente, obtendo-se a média entre os valores. A determinação da área foliar (AF) seguiu metodologia utilizada por Sangoi et al., (2011), utilizando a equação:

$$AF \text{ (cm}^2\text{)} = C \times L \times 0,75 \quad (1)$$

Onde C é o comprimento e L a largura de folhas.

O índice de área foliar (IAF) foi determinado foi determinado pela relação entre a área foliar e o espaço ocupado pelas plantas, através da seguinte equação:

$$IAF \text{ (m}^2 \text{ m}^{-2}\text{)} = \frac{AF}{E_1 \times E_2} \quad (2)$$

Sendo que E₁ e E₂ representam o espaçamento entre plantas e entre linhas, respectivamente.

Para a produtividade foram realizadas a colheita das espigas de milho em uma área útil de 4,5 m² no centro

da parcela. Após isso foram feitas a debulha manual das espigas e realizada a pesagens dos grãos, ajustando a umidade em 13%. A massa de 1000 grãos foi avaliada da mesma forma que para a cultura do trigo. Para a avaliação do tamanho de espiga foi utilizado um paquímetro, medindo-se o comprimento entre as extremidades da espiga e também o diâmetro no terço médio da espiga.

Todos os dados coletados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), sendo as médias, quando significativas, comparadas pelo teste de Scott-Knott, com 5% de probabilidade de erro. A análise estatística foi realizada através do programa Assistat 7.7.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados na cultura do trigo podem ser observados na tabela 1. As variáveis número de perfilhos, número de grãos por espiga e massa de mil grãos não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, indicando não haver efeito da inoculação, associada ou não à adubação nitrogenada, nestes parâmetros da cultura. Por outro lado, Fukami et al. (2016) observaram maior perfilhamento em trigo quando da inoculação das sementes, e destacaram que esse aumento pode ser considerado um dos mecanismos de promoção no rendimento em resposta à inoculação. Avaliando a inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à aplicação de N mineral, Lemos et al. (2013) obtiveram as maiores médias de grãos por espiga no trigo com a aplicações de N e/ou com N mais o inoculante.

Os maiores valores para a variável número de espigas por metro quadrado foram encontrados para os tratamentos em que houve associação da inoculação com aplicação de N na forma mineral, seja na semeadura ou em cobertura, sendo estes estatisticamente superiores tanto em comparação ao tratamento apenas com aplicação de N bem como para aqueles que apenas receberam inoculação. Esse resultado indica que podem haver efeitos benéficos à planta quando da associação da inoculação com a adubação nitrogenada, resposta que não é observada quando do uso isolado da inoculação ou N mineral. Além disso, quando da realização da inoculação, a redução e até mesmo a eliminação da adubação nitrogenada em cobertura não afetam a resposta da planta para esta variável avaliada. Rosário et al. (2013) observaram que a redução da dose de N aplicada em cobertura, quando associada à inoculação, não resultou em redução do número de espigas de trigo por planta.

A matéria seca da parte aérea diferiu entre os tratamentos. Os tratamentos que receberam aplicação de N mineral, independente da presença ou ausência de inoculação das sementes, diferiram dos tratamentos que receberam apenas inoculação. Analisando os tratamentos que apenas receberam inoculação, observa-se que o melhor resultado foi encontrado para a condição que recebeu a dose dobrada, indicando que a tecnologia pode trazer certos benefícios à cultura, sendo estes, no entanto, inferiores aos ganhos encontrados naqueles tratamentos

em que há aplicação de N. Além disso, a redução da adubação nitrogenada de cobertura, quando associada à inoculação, não afeta a produção de massa seca da planta. Avaliando a resposta da inoculação de sementes de *Brachiaria* spp., em solos tropicais degradados do Brasil, Hungria et al. (2016) observaram ganhos de 24,7% em massa de forragem quando da combinação da inoculação com a adubação nitrogenada, enquanto que houve ganhos de apenas 4,6% quando apenas aplicou-se o N.

Em relação ao rendimento de grãos, cujos valores médios variaram de 987 a 1857 kg ha⁻¹, os tratamentos em que houve aplicação de N, com um sem inoculação das sementes, foram superiores aqueles em que apenas foi realizada a inoculação das sementes e a testemunha, o que mais uma vez destaca a importância da adubação nitrogenada para a boa resposta da cultura. Nos tratamentos em que apenas realizou-se a inoculação, o rendimento foi similar ao observado na testemunha. Comportamento similar foi encontrado na avaliação do peso hectolitro. Rodrigues et al. (2014) também não obtiveram ganhos em rendimento de trigo com a inoculação, e atribuíram este resultado à competição por espaço e alimentos dos diversos microrganismos no solo, onde mesmo ocorrendo a fixação biológica pelas bactérias diazotróficas presentes no solo, essa não é suficiente para promover ganhos em produtividade.

A inoculação, quando associada a aplicação da metade da dose de N recomendada em cobertura resultou em rendimentos de grãos similares à condição onde aplicou-se dose total de N mineral em cobertura, indicando que, com a inoculação das sementes, é possível reduzir a dosagem de N aplicada em cobertura. Outros estudos encontraram resultados semelhantes (HUNGRIA et al., 2010; HUNGRIA, 2011), o que ajuda a reforçar a possibilidade de redução das quantidades de N aplicadas em cobertura quando é feita a inoculação das sementes. Fukami et al. (2016) destacam que a substituição total da adubação nitrogenada pela inoculação pode não ser viável, contudo, a inoculação permite uma redução de cerca de 25% do N a ser aplicado na cultura.

Para a cultura do trigo, a influência das condições meteorológicas, como as elevadas precipitações pluviométricas e temperaturas acima da média durante o estágio do florescimento, afetaram de forma substancial o rendimento da cultura. A ocorrência de doenças no período de enchimento de grãos, principalmente giberela (*Gibberella zeae*) e brusone (*Pyricularia grisea*), influenciaram na baixa média de produção, em todos os tratamentos. Em relação à precipitação pluviométrica, foram 1062 mm no período de condução para do trigo, enquanto que para a cultura do milho foram 831,6 mm.

Tabela 1. Número de perfilhos por planta (NP), número de espigas por metro quadrado (NEsp) e número de grãos por espiga (NGesp), matéria seca da parte aérea (MS), produtividade (PROD), massa de 1000 grãos (MMG) e peso hectolitro (PH) da cultura do trigo nos diferentes tratamentos avaliados

Id.	NP	NEsp	NGesp	MS	PROD	MMG	PH
			 kg ha ⁻¹		g	kg hL ⁻¹
T1	1,38	404,25 b	24,78 ^{ns}	3002,87 c	987,25 b	25,68 ^{ns}	68,32 b
T2	2,11	448,35 b	28,68	4615,33 b	1177,50 b	28,14	69,23 b
T3	2,29	540,22 a	27,12	6413,58 a*	1673,51 a	28,28	70,92 a
T4	2,16	515,14 a	30,78	7565,55 a	1800,34 a	28,75	71,28 a
T5	2,37	524,50 a	30,90	6869,76 a	1857,96 a	28,86	71,21 a
T6	2,50	454,76 b	27,55	6890,94 a	1839,11 a	27,77	70,33 a
T7	1,60	361,62 b	28,52	3088,26 c	1126,36 b	26,78	68,90 b
C.V(%)	26,05	13,47	11,69	14,53	13,24	5,47	2,06

*Valores seguidos de mesma letra pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. ^{ns} Não significativo. C.V.: coeficiente de variação. T1 – inoculação das sementes e sem N mineral; T2 – duas vezes a dose de inoculante nas sementes e sem N mineral; T3 – inoculação das sementes + N mineral na semeadura; T4 – inoculação das sementes + N mineral na semeadura + N mineral em cobertura; T5 – inoculação das sementes + N mineral na semeadura + ½ N mineral em cobertura; T6 – N mineral na semeadura + N mineral em cobertura; T7 – testemunha sem N mineral e sem inoculação.

Na tabela 2 são apresentados os resultados para as variáveis área foliar, índice de área foliar, altura de plantas e diâmetro de colmo, para a cultura do milho. Somente foram observadas diferenças na variável altura de plantas, onde os tratamentos T1, T4, T5 e T6 apresentaram comportamento similar porém superiores aos demais tratamentos. Estudando o efeito da inoculação

de sementes de milho com a bactéria *Azospirillum brasilense*, Cunha et al. (2014) não obtiveram resposta em parâmetros como diâmetro de colmo, altura de inserção da espiga, em altura de planta, índice de área foliar, o que também pode ser observado com boa parte dos resultados encontrados no presente estudo.

Tabela 2. Área Foliar, Índice de Área Foliar, altura de plantas e diâmetro de colmo nos diferentes tratamentos avaliados para a cultura do milho

Tratamentos	AF cm ²	IAF m ² m ⁻²	Altura de Plantas m	Diâmetro de colmo cm
T1	5477,27 ^{ns}	0,44 ^{ns}	2,39 a	1,95 ^{ns}
T2	5717,80	0,46	2,30 b	2,01
T3	6067,71	0,48	2,31 b	1,96
T4	5986,92	0,48	2,48 a	2,02
T5	5909,52	0,48	2,42 a	2,04
T6	6126,82	0,49	2,50 a	2,11
T7	5538,74	0,44	2,25 b	1,84
C.V. (%)	7,91	7,89	2,97	7,36

*Valores seguidos de mesma letra pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. ^{ns}Não significativo. C.V.: coeficiente de variação. T1 – inoculação das sementes e sem N mineral; T2 – duas vezes a dose de inoculante nas sementes e sem N mineral; T3 – inoculação das sementes + N mineral na semeadura; T4 – inoculação das sementes + N mineral na semeadura + N mineral em cobertura; T5 – inoculação das sementes + N mineral na semeadura + 1/2 N mineral em cobertura; T6 – N mineral na semeadura + N mineral em cobertura; T7 – testemunha sem N mineral e sem inoculação.

Na tabela 3 são apresentados os resultados para o rendimento de grãos, massa de mil grãos, comprimento e diâmetro de espigas. A produtividade de grãos variou entre 6751 a 10567 kg ha⁻¹. As maiores produtividades foram observadas nos tratamentos T4, T5 e T6, sendo estatisticamente superiores aos demais tratamentos. Esses resultados assemelham-se muitos aos encontrados para o trigo, onde os tratamentos com adubação nitrogenada mineral se sobressaem aos demais, independente da realização ou não da inoculação das sementes. Apesar da necessidade da adubação nitrogenada para obtenção de bons rendimentos, o uso da inoculação permite a redução pela metade da quantidade de N mineral aplicada em

cobertura (tratamento 5), sem haver perdas em produtividade. Ganhos em rendimento são apresentados na literatura para a inoculação das sementes de milho principalmente quando esta é associada à adubação nitrogenada (CAVALLET et al., 2000; SANGOI et al., 2015). Por outro lado, Lana et al. (2012) obtiveram acréscimos na produtividade de 7,2 a 15,4% com a eliminação da adubação nitrogenada em cobertura, apenas fazendo-se uso da adubação de base associada a inoculação. Hungria et al. (2010) também destaca a possibilidade de redução da quantidade de N aplicada, na forma de fertilizantes químicos, quando está é associada à inoculação.

Tabela 3. Produtividade de grãos de milho (PROD), Massa de 1.000 grãos (MMG), Comprimento de espigas (Cesp) e Diâmetro de espigas (Desp) de milho na safrinha de 2015

Id.	PROD kg ha ⁻¹	MMG g	Cespcm.....	Desp
T1	6751,13 b	263,77 b	10,36 b	4,89 b
T2	8269,11 b	271,38 b	11,82 a	5,08 b
T3	7478,65 b	271,38 b	10,11 b	5,05 b
T4	10566,65 a	312,59 a	12,83 a	5,25 a
T5	8942,69 a	293,75 a	12,10 a	5,18 a
T6	10178,57 a	292,12 a	12,15 a	5,41 a
T7	7008,66 b	269,58 b	10,82 b	4,85 b
C.V. (%)	12,69	5,79	8,64	3,75

*Valores seguidos de mesma letra pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. ^{ns}Não significativo. C.V.: coeficiente de variação. T1 – inoculação das sementes e sem N mineral; T2 – duas vezes a dose de inoculante nas sementes e sem N mineral; T3 – inoculação das sementes + N mineral na semeadura; T4 – inoculação das sementes + N mineral na semeadura + N mineral em cobertura; T5 – inoculação das sementes + N mineral na semeadura + 1/2 N mineral em cobertura; T6 – N mineral na semeadura + N mineral em cobertura; T7 – testemunha sem N mineral e sem inoculação.

Analisando de maneira conjunta os resultados encontrados para trigo e milho observa-se que não houveram ganhos significativos com a inoculação, e as culturas apresentaram uma forte dependência ao fornecimento de adubação nitrogenada. O não fornecimento de N mineral resultou em redução do desenvolvimento das culturas, bem como redução na produtividade. Vários estudos que avaliaram a resposta da inoculação em associação à adubação nitrogenada sobre o rendimento de espécies da família *Poaceae*, mostram grande resposta à aplicação de N (MULLER et al., 2015; DARTORA et al., 2016), independentemente da

inoculação ou não das sementes (ROSÁRIO, 2013; SANGOI et al., 2015). Mesmo na agricultura menos intensiva, onde são feitos baixos e médios investimentos em adubação nitrogenada, a inoculação não apresenta bons resultados em termos de possibilitar a eliminação do aporte de N (SANGOI et al., 2015).

Por outro lado, a inoculação permite a redução da quantidade de fertilizantes nitrogenados aplicados em cobertura. Outros estudos já apresentaram resultados similares (HUNGRIA et al., 2010), o que pode representar uma importante economia na agricultura. Baldani & Baldani (2005), através de aprofundada revisão

bibliográfica sobre a inoculação biológica de N em espécies não-leguminosas, destacam que bactérias, especialmente do gênero *Azospirillum*, podem contribuir em até 40% das necessidades de N pelas culturas. A quantidade de N fixado varia de 30 a 50 kg por hectare ano⁻¹ (HUNGRIA, 2011).

A inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* é uma importante estratégia na busca por sistemas agrícolas mais conservacionistas (FUKAMI et al., 2016). No entanto, fatores relacionados ao clima, solo, microbiota do solo, cultivares utilizadas e de adubação podem influenciar a resposta do inoculante (JAMES, 2000), e devem ser considerados quando do estudo e recomendação da prática da inoculação. A correta escolha da estirpe e do número de células viáveis por semente podem influenciar no sucesso ou no insucesso da inoculação (ARSAC et al., 1990). Para James (2000) o sucesso da associação entre bactérias diazotróficas e espécies não-leguminosas é limitado pelo número de diazotrofos presentes nas plantas e/ou rizosfera, poder de fixação dentro da planta ou em associação direta com esta, e ocorrência de taxas fixas de transferência de N às plantas. A não sobrevivência das bactérias, atrelada a fatores como o tipo de solo, genótipo da planta e variações climáticas, também afeta o sucesso da inoculação (QUADROS et al., 2014).

Os estudos até hoje desenvolvidos, como já destacado durante o presente trabalho, ainda divergem quanto ao real benefício de bactérias diazotróficas na fixação de N. De acordo com Baldani & Baldani (2005), diversos avanços em aspectos relacionados à interação entre gramíneas e as bactérias diazotróficas foram obtidos, porém dificilmente a eficiência dessa associação atingirá resultados similares ao que ocorre entre leguminosas e os rizóbios.

CONCLUSÕES

A inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* associado a adubação com N mineral pode aumentar a produtividade e a matéria seca de milho e trigo. A redução pela metade das doses de N em cobertura, associada à inoculação, não afeta o crescimento e rendimento de trigo e milho.

REFERÊNCIAS

ARSAC, J.; LAMOTHE, C.; MULARD, D.; FAGES, J. Growth enhancement of maize (*Zea mays* L.) through *Azospirillum lipoferum* inoculation: effect of plant genotype and bacterial concentration. *Agronomie* v. 10, p. 640-654, 1990.

BALDANI, J.; BALDANI, V. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* v. 77, p. 549-579, 2005.

BRUM, M. S.; CUNHA, V. S.; STECCA, J. D. L.; GRANDO, L. F. T.; MARTIN, T. N. Components of corn crop yield under inoculation with *Azospirillum brasilense* using integrated crop-livestock system. *Acta Scientiarum Agronomy* v. 38, p. 485-492, 2016.

CAVALLET, L.; PESSOA, A.; HELMICH, J.; HELMICH, P.; Ost, C. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum spp.* *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* v. 4, p. 129-132, 2000.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – CQFS RS/SC. *Manual de recomendação de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina*. Porto Alegre, RS. 2004. 400p.

CORASSA, G. M.; BERTOLLO, G. M.; GALLON, M.; BONA, S. D.; SANTI, A. L. Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada em trigo na região norte do Rio Grande do Sul. *Enciclopédia biosfera Centro Científico Conhecer* v. 9, p. 1298-1308, 2013.

CUNHA, F.; SILVA, N.; BASTOS, F.; CARVALHO, J.; MOURA, L.; TEIXEIRA, M.; ROCHA, A.; SOUCHIE, E. Efeito da *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no sudoeste goiano. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo* v. 13, p. 261-272, 2014.

DARTORA, J.; MARINI, D.; GONÇALVES, E. D. V.; GUMARÃES, V. F. Co-inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* in maize. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* v. 20, p. 545-550, 2016.

Embrapa. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Sistema Brasileiro de Classificação do Solo - SIBCS*. 3 ed., Brasília/DF. 2013. 353 p.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. *AMB Express* v. 6, p. 1-13, 2016.

GARCÍA-OLIVERAS, J. C.; MENDOZA-HERRERA, A.; MAYEK-PÉREZ, N. Efecto de *Azospirillum brasilense* em el rendimiento del maíz em el norte de Tamaulipas, México. *Universidad y Ciencia* v. 28, p. 79-84, 2012.

GORDILLO-DELGADO, F.; MARÍN, E.; CALDERÓN, A. Effect of *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia unamae* Bacteria on Maize Photosynthetic Activity Evaluated Using the Photoacoustic Technique. *International Journal of Thermophysics* v. 37, p. 1-11, 2016.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of

Azospirillum brasilense and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant Soil* v. 331, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Embrapa Soja, Documento 325. Londrina-PR. 2011.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: an environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. *Agriculture, Ecosystems and Environment* v. 221, p. 125-131, 2016.

JAMES, E. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. *Field Crops Research* v. 65, p. 197-209, 2000.

KAZI, N.; DEAKER, R.; WILSON, N.; MUHAMMAD, K.; TRETOWAN, R. The response of wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense* in the field. *Field Crops Research* v. 196, p. 368-378, 2016.

LANA, M. C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. *Revista Ceres* v. 59, p. 399-405, 2012.

LEMO, J.; GUIMARÃES, V.; VENDRUSCOLO, E.; SANTOS, M.; OFFEMANN, L. Resposta de cultivares de trigo à inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*, e à adubação nitrogenada em cobertura. *Científica* v. 41, p. 189-198, 2013.

MARTINEZ, S. B.; POMÉS, J.; MASI, M. A.; CHALE, W.; DE BENEDETTO, J. P.; GARBI, M. Production and response to *Azospirillum brasilense* inoculation in two globe artichoke hybrids. *Acta Horticulturae* v. 1147, p. 213-216, 2016.

MILLÉO, M. V. R.; CRISTÓFOLI, I. Avaliação da eficiência agrônômica da inoculação de *Azospirillum* sp. na cultura do milho. *Revista Scientia Agraria* v. 17, p. 14-23, 2016.

MORAIS, T. P.; BRITO, C. H.; BRANDÃO, A. M.; REZENDE, W. S. Inoculation of maize with *Azospirillum brasilense* in the seed furrow. *Revista Ciência Agronômica* v. 47, p. 290-298, 2016.

MULLER, T. M.; SANDINI, I. E.; RODRIGUES, J. D.; NOVAKOWSKI, J. H.; BASI, S.; KAMINSKI, T. H. Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. *Ciência Rural* v. 46, p. 210-215, 2015.

QUADROS, P.; ROESCH, L.; SILVA, P.; VIEIRA, V.; ROEHRS, D.; CAMARGO, F. Desempenho

agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. *Revista Ceres* v. 61, p. 209-218, 2014.

REPKE, R. A.; CRUZ, S. J. S. SILVA, C. J.; FIGUEIREDO, P. G.; BICUDO, S. J. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo* v. 12, p. 214-226, 2013.

RODRIGUES, L. F. O. S.; GUIMARÃES, V. F.; SILVA, M. B.; PINTO JUNIOR, A. S.; KLEIN, J.; COSTA, A. C. P. R. Características agrônômicas e nitrogênio em casa de vegetação. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* v. 18, p. 31-37, 2014.

ROSÁRIO, J. *Inoculação com Azospirillum brasilense associada à redução na adubação nitrogenada de cobertura em cultivares de trigo*. 85 f. Dissertação (dissertação de mestrado) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava – PR, Brasil. 2013.

SANGOI, L.; SCHWEITZER, C.; SILVA, P. R. F.; SCHMITT, A.; VARGAS, V. P.; CASA, R. T.; SOUZA, C. A. Perfilhamento, área foliar e produtividade do milho sob diferentes arranjos espaciais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* v. 46, p. 609-616, 2011.

SANGOI, L.; SILVA, L.; MOTA, M.; PANISON, F.; SCHMITT, A.; SOUZA, N.; GIORDANI, W.; SCHENATTO, D. Desempenho agrônômico do milho em razão do tratamento de sementes com *Azospirillum* sp. e da aplicação de doses de nitrogênio mineral. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* v. 39, p. 1141-1150, 2015.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; BENETT, C. G. S. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em trigo irrigado em plantio direto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* v. 45, p. 797-804, 2010.