

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E ZOOTECNIA

THAMARA CARVALHO LOUREIRO

INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS E ADUBAÇÃO  
NITROGENADA EM PLANTAS DE MILHO

VITÓRIA DA CONQUISITA-BA  
2017

THAMARA CARVALHO LOUREIRO

INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS E ADUBAÇÃO  
NITROGENADA EM PLANTAS DE MILHO

Monografia apresentada ao  
Departamento de Fitotecnia e Zootecnia  
da Universidade Estadual do Sudoeste  
da Bahia, como requisito parcial para a  
obtenção do título de Engenheiro  
Florestal.

VITÓRIA DA CONQUISITA-BA  
2017

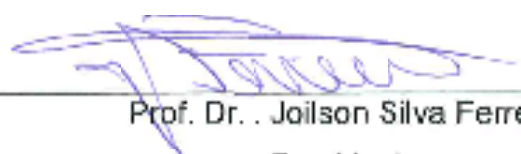
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E ZOOTECNIA  
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: Inoculação com bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada em plantas de milho.

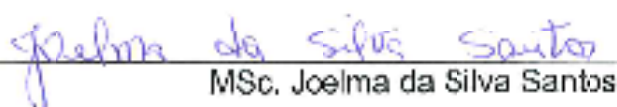
Autor: Thamara Carvalho Loureiro

Aprovada como parte das exigências para obtenção do título de BACHAREL EM ENGENHARIA FLORESTAL, pela Banca Examinadora:



---

Prof. Dr. Jilson Silva Ferreira  
Presidente



---

MSc. Joelma da Silva Santos



---

MSc. Rayka Kristian Alves Santos

Data da realização: 22 de Novembro de 2017

UESB - Campus Vitória da Conquista, Estrada do Bem Querer, Km 04.

CEP 45.031-900

Telefone: (77) 3425-9380

E-mail: [ccenfior@ecu.com.br](mailto:ccenfior@ecu.com.br)

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho à minha mãe, Ivana Ligia Barbosa Carvalho Silva, ao meu pai, Almar Loureiro da Silva e ao meu avô, Felipe Nery de Oliveira Carvalho (in memoriam), por toda a sua importância em minha vida. Te amarei eternamente!*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter abençoado toda a minha trajetória, desde a base da minha educação, me conduzindo ao sucesso.

Aos meus pais, Almar Loureiro da Silva e Ivana Ligia Barbosa Carvalho Silva, que abdicaram de si mesmos para me oferecer a melhor educação possível e que nunca hesitaram ao investir em meu futuro. Amo vocês acima de tudo.

À minha irmã, Thainá Carvalho Loureiro, pela presença em minha vida e que, apesar de não dizer sempre, amo muito.

Ao meu namorado, Dey Vieira Rodrigues Neto, por todo companheirismo, suporte e compreensão.

À minha família em geral, por todo apoio, carinho e suporte.

À UESB, seu corpo docente, direção e administração, que oportunizaram a minha formação acadêmica.

À FAPESB pelo apoio financeiro durante o período da Iniciação Científica.

Ao Laboratório de Microbiologia do Solo, que permitiu o desenvolvimento do experimento.

Ao Professor Joilson Silva Ferreira pela orientação e coordenação.

Ao Professor Divino Levi Miguel, por ceder de bom grado o laboratório, possibilitando o desenvolvimento do experimento.

À Doutoranda Joelma da Silva Santos, com quem muito aprendi, pela oportunidade de crescimento profissional.

Aos meus colegas que contribuíram de alguma forma para a minha formação e que estiveram comigo nessa trajetória.

A todos aqueles que se fizeram presentes e jamais deixaram de acreditar na minha vitória, meu muito obrigada!

*"A mente que se abre a uma nova ideia, jamais voltará ao seu tamanho original."*

(Albert Einstein)

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio e adubação nitrogenada em plantas de milho por meio de um experimento em vasos em área aberta da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), *Campus* de Vitória da Conquista - BA. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com arranjo fatorial 4x4, constituído por dezesseis tratamentos e quatro repetições. O primeiro fator correspondeu às estirpes e o segundo fator, às diferentes doses de nitrogênio. Foi utilizada a variedade AL Bandeirante. Os isolados utilizados foram N11, J9, ZAE94 e o controle. A fonte de nitrogênio utilizada foi ureia nos níveis de 0, 40, 80 e 120 kg N ha<sup>-1</sup>. As variáveis analisadas foram altura de plantas, diâmetro do colmo, massa fresca da parte aérea, massa seca da parte aérea e índice SPAD. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de significância. Não houve interação entre os fatores avaliados. Entretanto, a inoculação com as diferentes estirpes, quando analisada em separado, influenciou significativamente o índice SPAD, tendo sido os isolados J9 e ZAE94 os que apresentaram desempenhos mais satisfatórios quanto a esta variável. Além disso, todas as variáveis foram influenciadas pelas doses de N, em separado.

**Palavras-chave:** bactérias fixadoras de nitrogênio, AL Bandeirante, nitrogênio.

## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of the inoculation with nitrogen fixing bacteria and nitrogen fertilization on maize plants by means of an experiment in open area pots of the State University of the Southwest of Bahia (UESB), *Campus* of Vitória da Conquista-BA. A completely randomized design (DIC) with a 4x4 factorial arrangement was used, consisting of sixteen treatments and four replications. The first factor corresponded to the strains and the second factor, to the different doses of nitrogen. It was used AL Bandeirante variety. It was used the isolates N11, J9, ZAE94 and control. A source of nitrogen used was urea at the levels of 0, 40, 80 and 120 kg N ha<sup>-1</sup>. The analyzed variables were plant height, stem diameter, fresh piece mass, shoot dry mass and SPAD index. The data were analyzed statistically by the Tukey test at 5% of significance. There was no interaction between the factors. However, the inoculation with different strains, when analyzed separately, significantly influenced the SPAD index, and the isolates J9 and ZAE94 were the most satisfactory in this variable. In addition, all the variables were influenced by doses of N, separately.

**Key words:** nitrogen fixing bacteria, AL Bandeirante, nitrogen.



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
1.1. OBJETIVOS .....	15
1.1.1. Objetivo geral .....	15
1.1.2. Objetivos específicos .....	15
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
2.1. A importância da cultura do milho .....	16
2.2. Importância do Nitrogênio .....	17
2.3. Bactérias diazotróficas e fixação biológica de nitrogênio em gramíneas .....	18
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
3.1. Caracterização da área experimental .....	20
3.2. Delineamento experimental .....	20
3.3. Descrição do genótipo.....	20
3.4. Inoculação, adubação e plantio .....	21
3.5. Coleta de dados e variáveis analisadas .....	22
3.6. Análise estatística .....	22
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>30</b>

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância da regressão e coeficientes de variação (CV), em relação às avaliações de altura de planta (ALT), diâmetro do colmo (DAP), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA) e índice SPAD. .... 23

**Tabela 2.** Altura (ALT), diâmetro (DIAM), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) e Índice SPAD da variedade de milho cultivar AL bandeirante no município de Vitória da Conquista - BA. Média de 4 repetições. UESB, 2017. .... 23

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Análise de regressão da altura de plantas de milho aos 69 dias em função dos níveis de nitrogênio (0, 40, 80, 120 kg de N ha<sup>-1</sup>) na variedade AL Bandeirante. Vitória da Conquista - BA, 2017. .... 25
- Figura 2.** Análise de regressão do diâmetro de plantas de milho aos 69 dias em função dos níveis de nitrogênio (0, 40, 80, 120 kg de N ha<sup>-1</sup>) na variedade AL Bandeirante. Vitória da Conquista - BA, 2017. .... 25
- Figura 3.** Análise de regressão da massa fresca da parte aérea de plantas de milho aos 69 dias em função dos níveis de nitrogênio (0, 40, 80, 120 kg de N ha<sup>-1</sup>) na variedade AL Bandeirante. Vitória da Conquista - BA, 2017..... 26
- Figura 4.** Análise de regressão da massa seca da parte aérea de plantas de milho aos 69 dias em função dos níveis de nitrogênio (0, 40, 80, 120 kg de N ha<sup>-1</sup>) na variedade AL Bandeirante. Vitória da Conquista - BA, 2017..... 27
- Figura 5.** Análise de regressão do índice SPAD de plantas de milho aos 69 dias em função dos níveis de nitrogênio (0, 40, 80, 120 kg de N ha<sup>-1</sup>) na variedade AL Bandeirante. Vitória da Conquista - BA, 2017. .... 28

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BA - Bahia

°C - Graus Celsius

CATI - Coordenadoria de Assistência Técnica e Integral

cm - Centímetros

cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> - Centimol de carga por decímetro cúbico

DAE - Dias após a emergência

DIC - Delineamento Inteiramente Casualizado

EBRAPI - Empresa Brasileira de Tecnologia e Agronegócios

FBN - Fixação Biológica de Nitrogênio

g - Grama

g dm<sup>-3</sup> - Grama por decímetro cúbico

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia

K - Potássio

Kg - Quilograma (1000g)

kg ha<sup>-1</sup> - Quilograma por hectare

K<sub>2</sub>O - Óxido de Potássio

m<sup>3</sup> - Metro cúbico

MFPA - Massa fresca da parte aérea

mg dm<sup>-3</sup> - Miligrama por decímetro cúbico

mL kg<sup>-1</sup> - Mililitro por quilograma

mm - Milímetros

M.O. - Matéria Orgânica

MSPA - Massa seca da parte aérea

N - Nitrogênio

N<sub>2</sub> - Nitrogênio Atmosférico

N ha<sup>-1</sup> - Nitrogênio por hectare

NH<sub>3</sub> - Amônia

NO<sup>3-</sup> - Nitrato

P - Fósforo

pH - Potencial Hidrogeniônico

P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - Pentóxido de Fósforo

R<sup>2</sup> - Coeficiente de determinação

UESB - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

% - Porcentagem

## 1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos produtos agrícolas mais amplamente distribuídos no mundo, além de ser um dos cereais mais antigos. É uma cultura muito utilizada na alimentação humana e animal, bem como na produção de matérias-primas para a indústria, além de ser muito importante no Brasil, econômica e socialmente, tanto do ponto de vista dos agronegócios quanto da agricultura familiar (BARROS, 2014). No município de Vitória da Conquista - BA, a produção de milho vem crescendo exponencialmente e se tornando cada vez mais significativa economicamente (CONAB, 2016).

A obtenção de altos rendimentos nesta cultura exige a adoção de práticas de manejo adequadas, conforme as condições edafoclimáticas da região de implantação. Exige também a aplicação de fertilizantes minerais no solo. Prática esta que é onerosa e que provoca desequilíbrio nos ecossistemas naturais.

Por este motivo, alternativas ao uso de defensivos químicos vêm sendo estudadas, especialmente voltadas à diminuição da adubação nitrogenada, aliadas ao aumento na produtividade e melhorias no cultivo de gramíneas. O uso de microrganismos na forma de inoculantes biológicos, junto ou não a ferramentas moleculares e genéticas, têm se mostrado uma tecnologia promissora na substituição de métodos tradicionais de adubação com fertilizantes.

O nitrogênio é um nutriente mineral essencial ao desenvolvimento das culturas, e constitui um dos mais limitantes à sua produção. Dentre os processos naturais, a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) é o que mais contribui para o fornecimento desse nutriente no solo, sendo, conforme Moraes (2014), um processo bioquímico pelo qual bactérias associadas à planta transformam o  $N_2$  da atmosfera em nitrogênio assimilável para as plantas. Tais bactérias, denominadas bactérias diazotróficas, se associam a espécies vegetais que, por sua vez, aproveitam naturalmente o nitrogênio atmosférico.

Diante disto, espera-se que a adoção de práticas de manejo adequadas, aliadas à inoculação de bactérias diazotróficas favoreçam a fixação biológica de nitrogênio em cultivares de milho, resultando na maximização da produtividade, na redução dos custos de produção da cultura, bem como na redução da necessidade

de utilização de fertilizantes nitrogenados e consequente mitigação dos impactos ambientais por estes causados.

## **1.1. OBJETIVOS**

### **1.1.1. Objetivo geral**

Quantificar a contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada em plantas de milho variedade AL Bandeirante.

### **1.1.2. Objetivos específicos**

- Implantar um experimento em vasos em área aberta utilizando as estirpes N11, J9 e ZAE94 associadas a diferentes dosagens de nitrogênio no cultivo do milho.
- Verificar o efeito dos diferentes tratamentos, determinando parâmetros de altura das plantas, diâmetro do colmo, massa fresca da parte aérea, massa seca da parte aérea e índice SPAD.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. A importância da cultura do milho

O milho, segundo Lima (2007), é uma gramínea da família *Poaceae*, pertencente à tribo *Maydeae*, do gênero *Zea* e da espécie *Zea Mays* L. É uma planta tropical e, por isso, exige calor e umidade durante o seu ciclo vegetativo, para se desenvolver bem e apresentar alta produtividade de grãos e matéria seca.

Dentre várias hipóteses sobre a origem do milho, a de maior confiabilidade é a de que o mesmo seja descendente do teosinte, isto porque estas duas plantas se cruzam naturalmente e facilmente formam híbridos férteis (FREITAS, 2001). Seu centro de origem geográfica se apresenta nas terras americanas, mais precisamente entre o México (América do Norte) e a Guatemala (América Central) (CIB, 2009).

Os principais fatores que influenciam a produtividade do milho são a adubação nitrogenada, o potencial genético das sementes, condições climáticas, especialmente temperatura e radiação solar, e o manejo da população de plantas (COSTA et al., 2005).

É uma das culturas mais antigas do mundo, e atualmente está entre os cereais mais cultivados mundialmente (MORAIS, 2016). Sua importância econômica é fundamentada pela ampla distribuição desse grão, em dietas animais e humana, como matéria-prima para diversos produtos industrializados e para a produção de bioenergia (PINOTTI et al., 2009). Do ponto de vista social, sua importância se deve ao elevado número de pequenos produtores rurais, com áreas agricultáveis pequenas e de baixo nível tecnológico (DUARTE, et al., 2011).

Os maiores produtores mundiais de milho são os Estados Unidos, China e Brasil, respectivamente. O total da área plantada com milho primeira safra, no país, para o período 2016/17 atingiu 5.541 mil hectares. A produção atingiu um montante de 30.151 mil toneladas, representando incremento de 17,1% em relação à safra anterior (CONAB, 2017).

No Brasil, sua produção compreende duas épocas do ano, o verão, período de chuvas, chamado de milho safra; e no inverno, conhecido como milho safrinha ou segunda safra, uma vez que neste período a produção da cultura tende a ser menor (DUARTE et al., 2015).

## 2.2. Importância do Nitrogênio

O nitrogênio (N) está entre os elementos químicos mais abundantes da natureza e é um elemento essencial para todos os organismos vivos, uma vez que é um dos principais constituintes dos aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, clorofila, e muitos outros importantes constituintes celulares (SORATTO, 2010).

Parte do N mineral aplicado no solo é absorvido pelas plantas, sendo o restante perdido do sistema solo-planta-atmosfera por processos de lixiviação, volatilização, erosão e desnitrificação, tendo ainda uma fração que permanece no solo na forma orgânica (VARGAS, 2010).

Sua disponibilização à biosfera pode se dar por meio de descargas elétricas, industrial e biológica. Entretanto, de acordo com Jesus (2014), a forma disponível de N para as plantas acontece por meio da quebra da tripla ligação dos dois átomos de N, que ocasiona a redução do  $N_2$  à amônia ( $NH_3$ ), processo este que requer um grande dispêndio de energia, especialmente quando do processo industrial.

Sua utilização como adubo químico nas lavouras exige o processo industrial de fixação de  $N_2$ , que apresenta um elevado custo econômico uma vez que, segundo Machado et al. (1998), estes representam mais de 70% do custo de adubação do milho, por exemplo. Além disso, há o custo do ponto de vista ambiental, uma vez que a utilização de adubos químicos em grande escala leva à degradação de recursos naturais e afeta funções ecológicas do solo.

No Brasil, os fertilizantes inorgânicos são a principal forma de adição de nutrientes ao solo. Além disso, a maioria dos solos brasileiros apresenta baixo teor de N disponível, o que torna a adubação nitrogenada uma prática, até então, indispensável. E, de acordo com Tagliari (2014), a forma mais utilizada como fonte de nitrogênio no Brasil é a ureia, por apresentar elevada concentração de N por unidade de produto (45%) além de ser passível de utilização associada a outros fertilizantes, já que possui alta solubilidade.

Dentre todos os nutrientes exigidos pela cultura do milho para atingir seu potencial produtivo, o nitrogênio é exigido em maior quantidade, sendo o nutriente que mais limita o seu desenvolvimento, visto que este participa de reações importantes do metabolismo da planta. Contudo, sua utilização de maneira adequada, na dose e no momento correto de aplicação pode proporcionar

incremento na produtividade. Daí o interesse na fixação biológica de nitrogênio em gramíneas (VARGAS, 2010).

### **2.3. Bactérias diazotróficas e fixação biológica de nitrogênio em gramíneas**

Bactérias diazotróficas têm a habilidade de converter o nitrogênio gasoso em nitrogênio acessível aos demais organismos. Tais bactérias, sejam em simbiose ou vida livre, apresentam um elevado potencial em reduzir a dependência de fertilizantes nitrogenados industriais em espécies de grande importância econômica como as gramíneas (VINHAL-FREITAS, 2010). Os inoculantes biológicos de vegetais são também chamados de biofertilizantes e contribuem para o crescimento e desenvolvimento de diversas culturas e, portanto, no aumento da produção agrícola. Além disso, dados da literatura mostram que a contribuição dessas bactérias é maior quando associadas à aplicação de doses variáveis de fertilizante nitrogenado na cultura (SILVEIRA, 2008).

O processo de fixação biológica de nitrogênio é realizado por organismos fixadores de nitrogênio, dentre eles as bactérias diazotróficas e é um processo que recicla nitrogênio constantemente para a atmosfera. De acordo com Morais (2016), é um processo natural de conversão de nitrogênio atmosférico ( $N_2$ ) a amônia ( $NH_3^+$ ), mediada por microrganismos de vida livre ou associados simbioticamente a outros organismos.

As bactérias diazotróficas são divididas em três grupos: as de vida livre, que fixam nitrogênio para si mesmas; as associativas, que contribuem para a planta sem estabelecer simbiose; e as simbióticas, que podem formar estruturas diferenciadas, denominadas nódulos (MARIN, 1999). No caso das gramíneas, associação acontece de forma associativa, sem formar uma estrutura especializada.

As bactérias diazotróficas associativas fazem uso de vários mecanismos capazes de estabelecer a colonização das plantas e fixação de nitrogênio (MORAIS, 2016). A FBN em sistemas agrícolas pode contribuir significativamente com o aporte de N nos solos. Resultados positivos à fixação biológica de nitrogênio foram encontrados por Jesus (2014) quando constatou que a variedade AL Bandeirante respondeu positivamente à inoculação e foi mais eficiente por ser mais rústica e

mais apta a se desenvolver bem sob as condições edafoclimáticas de Vitória da Conquista.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Caracterização da área experimental

O experimento foi implantado e conduzido na área experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *campus* Vitória da Conquista - BA, cujas coordenadas geográficas, conforme o INMET (2014), correspondem a - 40.8° de longitude e - 14.9° de latitude, com altitude aproximada de 875 metros. Segundo Köppen e Geiger, a classificação do clima é Cwb. A temperatura média é de 20 °C e a pluviosidade média anual equivale a 712 mm. O Clima é quente e temperado, havendo muito menos pluviosidade no inverno que no verão.

Para a montagem do experimento, coletou-se o solo da camada de 0-20 cm do horizonte A de um Latossolo Amarelo Típico do *campus* em estudo, o qual foi, posteriormente, submetido à análise química no Laboratório de Solos da UESB. Os resultados da análise demonstraram as seguintes características: pH em água = 5,6, P = 3 mg dm<sup>-3</sup>, K = 0,22 Cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; MO = 15 g dm<sup>-3</sup> de solo. As recomendações das correções foram realizadas conforme Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (ALVAREZ & RIBEIRO, 1999).

#### 3.2. Delineamento experimental

O experimento foi conduzido por um período de 69 dias, contados a partir do plantio. O genótipo de milho utilizado foi o AL Bandeirante.

O arranjo experimental foi em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com arranjo fatorial duplo 4x4, com dezesseis tratamentos e quatro repetições, totalizando 64 parcelas. O primeiro fator correspondia à inoculação com bactérias diazotróficas e o segundo fator os diferentes níveis de nitrogênio aplicados, bem como um tratamento testemunha.

#### 3.3. Descrição do genótipo

O genótipo utilizado foi a variedade AL Bandeirante, que apresenta ciclo semiprecoce (130 a 140 dias) e uma boa adaptabilidade às condições climáticas de Vitória da Conquista e de todo o Brasil. Esta variedade foi desenvolvida pela CATI

(Coordenadoria de Assistência Técnica e Integral) e multiplicado pela EBRAPI (Empresa Brasileira de Tecnologia e Agronegócios). A variedade foi lançada em 2001 e possui um significativo potencial de produtividade de grãos. Originária de cruzamento ao acaso de cultivares de ciclo normal. Obtida após diversas gerações de recombinação, seleção massal e seleção entre famílias de meio-irmãos. Destaca-se na safra normal (setembro a dezembro), podendo ser plantada na safrinha (janeiro a março). A época de florescimento se dá de 62 a 63 dias após a semeadura, tem porte alto, com altura média de 2,30 m, possui um baixo índice de acamamento. Além disso, é recomendada para solos de baixa a alta fertilidade, apresenta alta rusticidade e sementes de baixo custo (CATI, 2001).

### 3.4. Inoculação, adubação e plantio

O experimento teve início no Laboratório de Microbiologia do Solo da UESB, *Campus* de Vitória da Conquista - BA, por meio da reativação das bactérias diazotróficas que estavam em estoque e que haviam sido previamente isoladas, visando à purificação das colônias para a produção do inoculante.

O experimento foi implantado no dia 28 de abril de 2017. A inoculação foi realizada com bactérias diazotróficas, sendo duas estirpes nativas, J9 e N11 (SANTOS, 2013), e a estirpe ZAE94 (BR11417) de *H. seropedicae* fornecido pela Embrapa Agrobiologia, além de um tratamento controle.

A fonte de N utilizada foi ureia nos níveis de (0, 40, 80 e 120 kg de N ha<sup>-1</sup>). A primeira aplicação de nitrogênio, que correspondeu a 30% do total aplicado, foi realizada no momento da semeadura. Além disso, foi recomendada a adubação de 80 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e de 20 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de Superfosfato Simples e Cloreto de Potássio, respectivamente. Os 70% restantes foram aplicados após o desbaste.

Foram semeadas 4 sementes da variedade AL Bandeirante por vaso (cada vaso com volume de 0,01 m<sup>3</sup>), previamente inoculadas na proporção de 250 g de inoculante para 10 kg de semente de milho (ALVES, 2007). Ao vigésimo dia do plantio realizou-se o desbaste, deixando apenas uma plântula em cada vaso. O fornecimento de água à cultura foi realizado por meio da rega com vasos de 1L ou 2L, a depender da incidência de chuvas, e turno de rega de dois dias.

### 3.5. Coleta de dados e variáveis analisadas

#### - *Avaliação morfológica*

A altura das plantas (cm) foi medida com uma régua, do primeiro nó até a inserção da última folha completamente expandida. O diâmetro do colmo (mm) foi medido no primeiro nó, com auxílio de um paquímetro digital. A parte aérea das plantas foi colhida e, posteriormente, pesou-se o material vegetal com auxílio de uma balança de precisão para a obtenção da massa fresca da parte aérea (g). Para a obtenção da massa seca da parte aérea (g), o material foi posto em estufa a 60°C, pesado diariamente, até que atingiu peso seco constante.

#### - *Índice SPAD*

A análise do teor de clorofila foi realizada por meio do clorofilômetro do tipo SPAD-520. Para tanto, foram efetuadas 3 leituras a 2 cm da margem e no terço médio da última folha totalmente desenvolvida.

### 3.6. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância por meio do programa Sisvar versão 5.8 (FERREIRA, 2011).

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade. Os modelos matemáticos mais adequados foram comprovados quando a análise o teste F para a regressão foi significativa ( $P < 0,05$ ) e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) apresentou maior precisão, elegendo o modelo linear ( $\hat{y} = \alpha_0 + \alpha_1x + \varepsilon$ ) ou polinomial quadrático ( $\hat{y} = \alpha_0 + \alpha_1x + \alpha_2x^2 + \varepsilon$ ) quando mais ajustado.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância mostraram que não houve interação entre os fatores avaliados (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância da regressão e coeficientes de variação (CV), em relação às avaliações de altura de planta (ALT), diâmetro do colmo (DAP), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA) e índice SPAD.

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS				
		ALT	DIAM	MFPA	MSPA	SPAD
BAC	3	193.5304 <sup>NS</sup>	16.9965 <sup>NS</sup>	0.0109 <sup>NS</sup>	227.8073 <sup>NS</sup>	427,0435*
DOSE	3	537.0729*	97.1264*	0.0814*	2031.5573*	188.6435*
BAC * DOSE	9	111.1358 <sup>NS</sup>	5.5125 <sup>NS</sup>	0.0043 <sup>NS</sup>	158.5295 <sup>NS</sup>	117.9239 <sup>NS</sup>
Resíduo	48	89.3518	7.8132	0.0047	112.0260	59.9418
CV (%)		23.25	12.35	27.77	22.85	34.59

\* Significativo ( $p \leq 0,05$ ) pela análise de variância da regressão.

Assim sendo, os estudos foram feitos isolados para cada fator.

As variáveis altura, diâmetro do colmo, massa fresca da parte aérea e massa seca da parte aérea não foram influenciadas pela inoculação com as bactérias diazotróficas, em separado, sendo o índice SPAD a única variável que apresentou esta influência (Tabela 2).

**Tabela 2.** Altura (ALT), diâmetro (DIAM), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) e Índice SPAD da variedade de milho cultivar AL bandeirante no município de Vitória da Conquista - BA. Média de 4 repetições. UESB, 2017.

TRATAMENTOS	ALT (m)	DIAM (mm)	MFPA (g)	MSPA (g)	SPAD
CONTROLE	32,8313 a	19,6606 a	0,1678 a	33,5000 a	16.7063 b
N11	39,7250 a	21,8061 a	0,2091 a	41,3125 a	20.0063 b
ZAE94	44,6688 a	23,5838 a	0,2848 a	51,2500 a	24.1813 a
J9	45,4000 a	25,4394 a	0,3252 a	59,2500 a	28.6250 a
<sup>1</sup> CV (%)	23,25	12,35	27,77	22,85	34.59

<sup>1</sup>Coeficiente de Variação. Médias seguidas letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para a altura das plantas de milho, não houve diferença significativa entre os tratamentos, isto é, a inoculação não influenciou esta variável. Resultado semelhante ao de Moraes (2016), que, avaliando o comportamento de híbridos de milho submetidos à adubação nitrogenada e à inoculação com bactéria diazotrófica,



não encontrou diferenças estatísticas entre as médias da altura para o fator estirpe, quando analisado separadamente.

Quanto ao índice SPAD, a presença de bactérias diazotróficas influenciou significativamente esta variável. Além disso, os tratamentos com as estirpes J9 e ZAE94, foram estatisticamente iguais e superiores aos demais tratamentos. De forma distinta, Nascimento (2017), não encontrou interações significativas da inoculação com as estirpes de bactérias J9, 20C e J1 no híbrido AG1051.

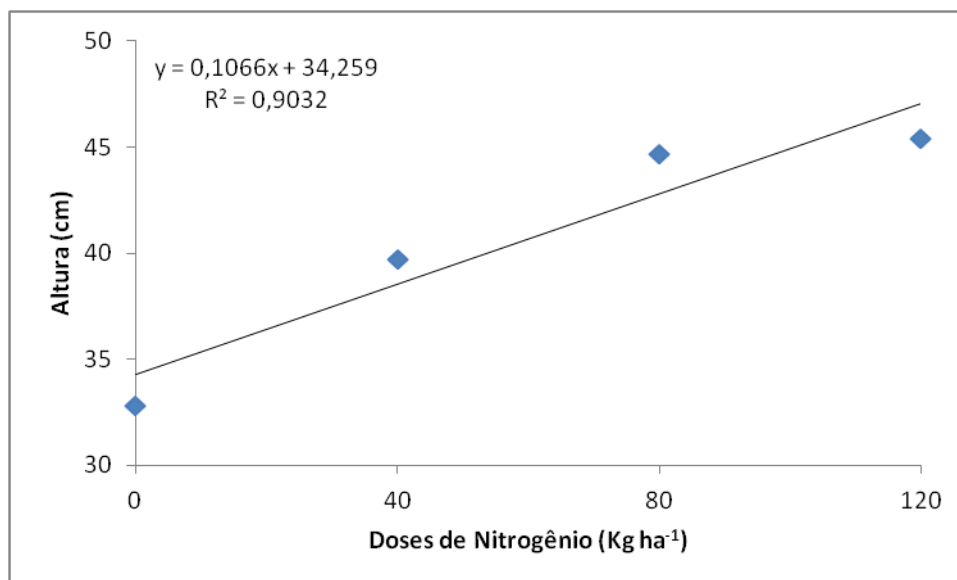
Jordão et al. (2010) constataram que a média da leitura do índice SPAD nos tratamentos com inoculação foi maior que a média dos tratamentos sem a presença de bactérias, demonstrando, portanto, o efeito da inoculação sobre a fixação de nitrogênio.

Não houve efeito da inoculação para a variável diâmetro do colmo. De forma semelhante, Pandolfo (2015), estudando o desempenho de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a doses de nitrogênio em cobertura, constatou que a para o diâmetro do colmo não houve efeito significativo da inoculação, das doses de nitrogênio, nem da interação dos fatores.

Não houve efeito significativo para a inoculação das estirpes para a variável massa seca. Em contrapartida, Marini (2015), ao avaliar a eficiência da inoculação de produto comercial à base de *Azospirillum brasilense* em associação com diferentes níveis de adubação nitrogenada em dois genótipos de milho, verificou que a inoculação proporcionou incremento de 12% na matéria seca da parte aérea do milho em relação ao tratamento sem a inoculação.

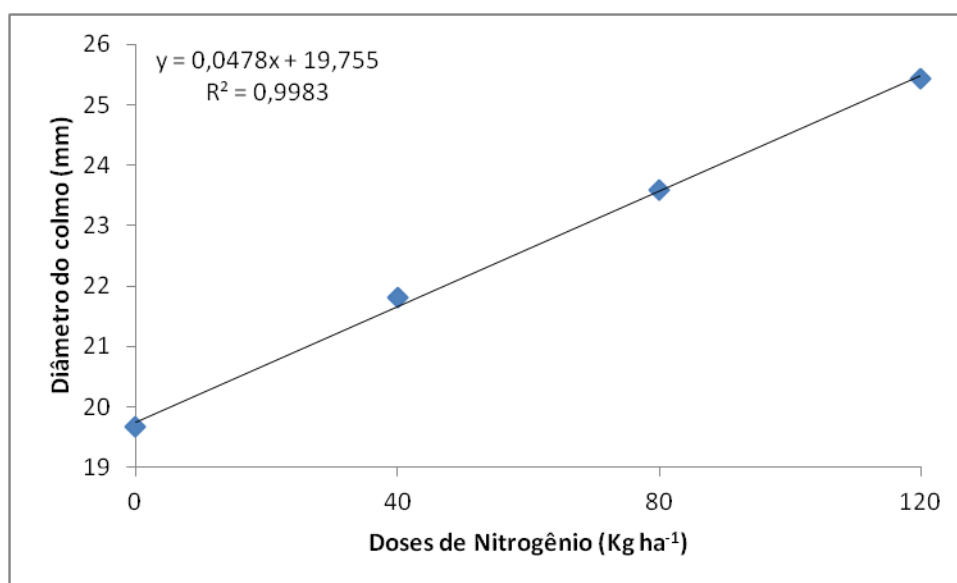
Todas as variáveis foram influenciadas pelos níveis de nitrogênio, em separado.

A análise de regressão da altura apresentou um ajuste linear em que a altura das plantas de milho tende a aumentar com os níveis de N (Figura 1), estando a maior média da altura (45,4000 cm) está associada à dose 120 kg de N ha<sup>-1</sup>.



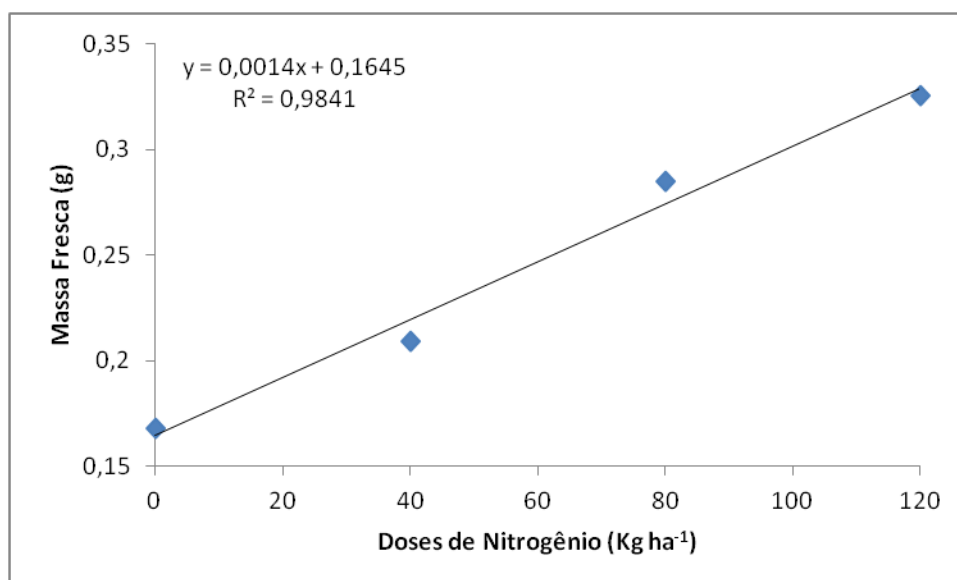
**Figura 1.** Análise de regressão da altura de plantas de milho aos 69 dias em função dos níveis de nitrogênio (0, 40, 80, 120 kg de N ha<sup>-1</sup>) na variedade AL Bandeirante. Vitória da Conquista - BA, 2017.

O diâmetro do colmo foi influenciado pelas diferentes doses de nitrogênio, havendo uma tendência linear de crescimento do diâmetro com o aumento da dose (Figura 2), estando a maior média (25,4394 mm) associada à dose 120 kg de N ha<sup>-1</sup>.



**Figura 2.** Análise de regressão do diâmetro de plantas de milho aos 69 dias em função dos níveis de nitrogênio (0, 40, 80, 120 kg de N ha<sup>-1</sup>) na variedade AL Bandeirante. Vitória da Conquista - BA, 2017.

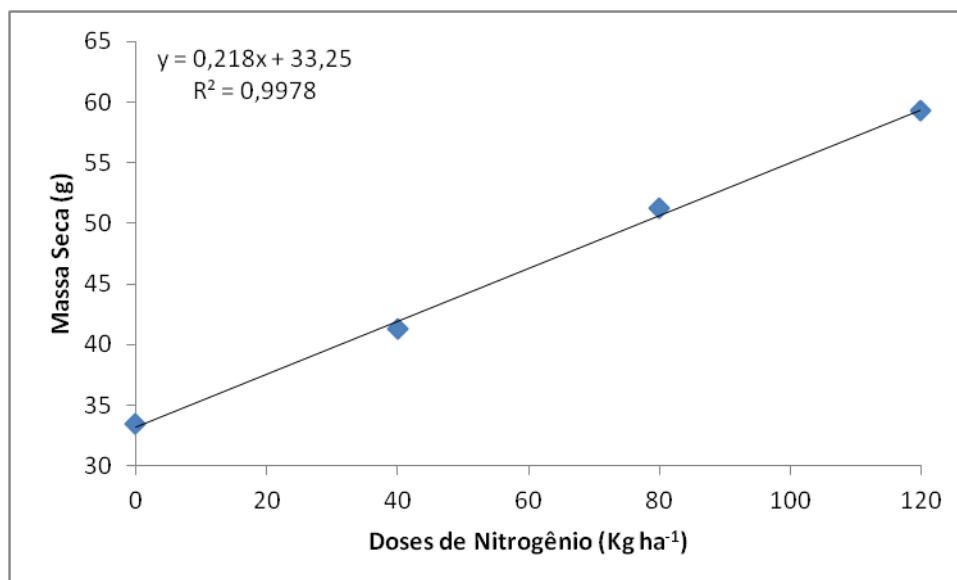
As doses crescentes de nitrogênio aumentaram linearmente o teor de massa fresca, estando a dose 120 kg de N ha<sup>-1</sup> associada a maior média para este índice (0,3252 g) (Figura 3).



**Figura 3.** Análise de regressão da massa fresca da parte aérea de plantas de milho aos 69 dias em função dos níveis de nitrogênio (0, 40, 80, 120 kg de N ha<sup>-1</sup>) na variedade AL Bandeirante. Vitória da Conquista - BA, 2017.

De forma semelhante, Morais (2015), ao avaliar os aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímico do solo em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *Azospirillum brasilense*, observou que o acúmulo de massa fresca da parte aérea não foi afetado pelas doses do inoculante. Além disso, o autor constatou que a dose equivalente a 100 kg de N ha<sup>-1</sup> promoveu maiores médias em relação à massa fresca da parte aérea.

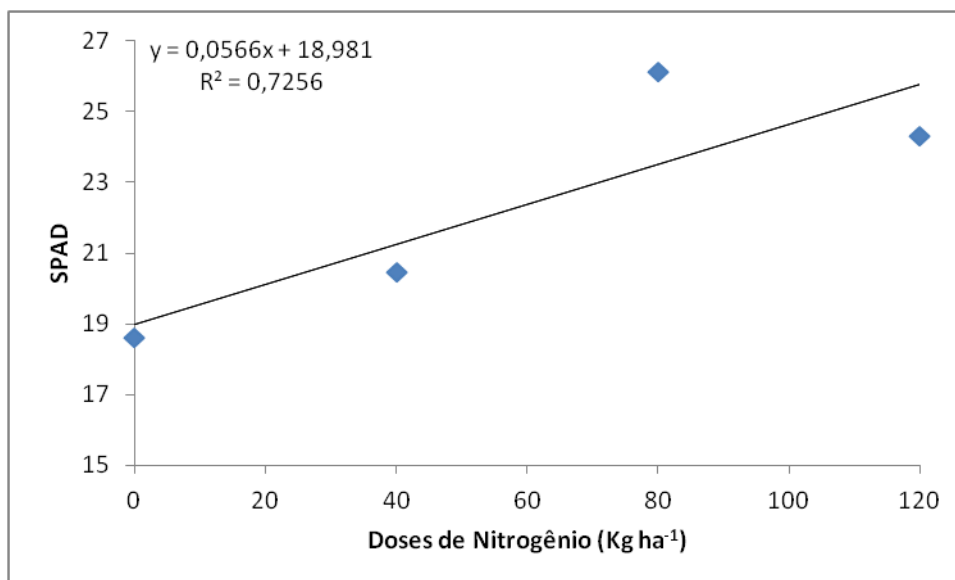
A avaliação do índice massa seca apresentou efeitos lineares crescentes e significativos para o teste de regressão. Assim sendo, os valores das médias da variável massa seca aumentaram com o aumento da dose de nitrogênio, estando a maior média (59,2500 g) associada à dose 120 kg de N ha<sup>-1</sup> (Tabela 4).



**Figura 4.** Análise de regressão da massa seca da parte aérea de plantas de milho aos 69 dias em função dos níveis de nitrogênio (0, 40, 80, 120 kg de N ha<sup>-1</sup>) na variedade AL Bandeirante. Vitória da Conquista - BA, 2017.

De forma contrária, Santos (2013), ao analisar os resultados de seu experimento conduzido em casa de vegetação, constatou que não houve efeito significativo da adubação nitrogenada e que somente a inoculação influenciou significativamente a variável massa seca da parte aérea. Enquanto que Quadros (2009), avaliando o desempenho agrônômico de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*, em associação com a adubação nitrogenada, observou que o tratamento que recebeu a dose equivalente a 130 kg de N ha<sup>-1</sup> sem inoculação foi estatisticamente superior aos demais tratamentos para todas as cultivares quanto ao teor de massa seca da parte aérea.

A análise de regressão do índice SPAD mostrou que houve um ajuste quadrático, ou seja, o aumento das doses de nitrogênio promoveu efeito quadrático até um ponto ótimo, com maiores valores médios em torno de 80 kg de N ha<sup>-1</sup>. A partir desta concentração, houve decréscimo no índice SPAD, indicando que este pode ter sido um nível elevado ou tóxico de ureia, afetando negativamente este componente morfológico (Figura 5).



**Figura 5.** Análise de regressão do índice SPAD de plantas de milho aos 69 dias em função dos níveis de nitrogênio (0, 40, 80, 120 kg de N ha<sup>-1</sup>) na variedade AL Bandeirante. Vitória da Conquista - BA, 2017.

Cadore (2014), em trabalho semelhante, constatou efeito positivo no teor de clorofila total (SPAD) em relação ao tratamento sem adubação nitrogenada quando a inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum* foi feita de forma conjunta à adubação com N.

## 5. CONCLUSÃO

Não houve interação entre as estirpes e as diferentes doses de nitrogênio na variedade AL Bandeirante, sob as condições testadas.

A inoculação com as diferentes estirpes, em separado, somente influenciou o índice SPAD.

Os isolados J9 e ZAE94 apresentaram incrementos superiores em todos os tratamentos.

As variáveis ALT, DIAM, MFPA e MSPA foram influenciadas pela dose 120 kg N ha<sup>-1</sup>, em separado. Enquanto que a dose 80 kg N ha<sup>-1</sup> obteve melhor índice SPAD.

## REFERÊNCIAS

ALVAREZ V., VICTOR HUGO; RIBEIRO, ANTONIO CARLOS; e GUIMARÃES, PAULO TÁCITO G. In: Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais (CFSMG). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5ª aproximação, Viçosa, p. 41-60, 1999.

ALVES, GABRIELA CAVALCANTI. **Efeito da Inoculação de Bactérias Diazotróficas dos Gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia* em Genótipos de Milho**. 2007. 53 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro 2007.

AGROINSUMOS. **Milho: Principais cultivares de sementes**. Disponível em: <<http://www.agroinsumos.com.br/links/culturas/milho.htm>>. Acesso em: Maio de 2017.

BARROS, José F. C.; GALADO, José, G. **A cultura do milho**. Universidade de Évora, Escola de Ciências e Tecnologia, Departamento de Fitotecnia. 2014.

CADORE, R. **Associação entre *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada em híbridos de milho**. 2014. 73f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Goiás.

Cantarella H, Duarte AP. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. In: Galvão JCC, Miranda GV, editores. **Tecnologias de produção do milho**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa; 2004. p.139-82.

CATI. **Milho AL Bandeirante**. 2001. Disponível em: <<http://www.cati.agricultura.sp.gov.br/portal/themes/unify/arquivos/produtos-e-servicos/MILHO-AL-BANDEIRANTE.pdf>>. Acesso em: 20 Set 2017.

CIB - CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA. Guia do Milho: Tecnologia do campo à mesa Cartilha. **Paraná:CIB**, 16p, 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. V. 4 - Safra 2016/17 - N. 8 - Oitavo levantamento. Brasília, p. 1-144. Maio 2017.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, CONAB. **Acompanhamento da safra Baiana de grãos**. Sexto levantamento - Safra 2015/16. Março 2016.

COSTA, F. M. P da.; DOURADO NETO, D. FANCELLI, A.; BONNECARRERE, R. A. G.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Nitrogênio e produtividade de grãos de milho. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. (Eds). **Milho: tecnologia e produção**. Piracicaba: ESALQ/USP/LVP, p. 118-128; 2005.

DARTORA, JANAÍNA; GUIMARÃES, VANDEIR F.; MARINI, DENIELE; SANDER, GERSON. **Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e**

***Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. V. 17, n. 10, p. 1023-1029, 2013.

FERREIRA, Daniel Furtado. **Sisvar: a computer statistical analysis system.** Ciência e Agrotecnologia (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FREITAS-VINHAL, I. C.; RODRIGUES, M. B. **Fixação Biológica do Nitrogênio na cultura do milho.** Agropecuária Técnica. V. 31, n. 2, 2010. INSS 0100-7467. Areia, PB. CAA-UFPB.

FREITAS, F.O. Estudo **Genético-Evolutivo de Amostras Modernas e Arqueológicas de Milho ( *Zea mays mays*, L.) e Feijão (*Phaseolus vulgaris*, 76 L.).** Piracicaba: ESALQ/USP. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação, Área de Concentração: Genética e Melhoramento de Plantas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 125p, 2001

INMET, INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Banco de dados meteorológicos para ensino e pesquisa - BDMEP. Estação 8334. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/mestempo>>. Acesso em: Maio de 2017.

JESUS, CRISTINA MEIRA. **Respostas de diferentes genótipos de milho à inoculação de bactérias diazotróficas e fontes de nitrogênio.** 2014. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB. Vitória da Conquista - BA.

JORDÃO, L. T.; LIMA, F. F. de; LIMA, R. S. ; MORETTI, P. A. E. ; PEREIRA, H. V.; MUNIZ, A. S. OLIVEIRA, M. C. N. de. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum braziliense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. In: **XXIX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas; XIII Reunião Brasileira sobre Micorrizas; XI Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo; VIII Reunião Brasileira de Biologia do Solo.** Guarapari – ES, 2010.

JUNIOR, F. B. R. **Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio.** R. Bras. Ci. Solo, 32:1139-1146, 2008.

KAPPES, C. et al. **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, mar./abr. 2013.

LIMA, GERALDO TIAGO. **Consequências da remoção do limbo foliar em diferentes estádios reprodutivos da cultura do milho.** Lavras - Minas Gerais - Brasil. 2007.

LINCOLN, TAIZ e ZEIGER, EDUARDO. **Fisiologia Vegetal.** 3. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

MACHADO, ALTAIR TOLEDO; SODEK, LADASLAV; DOBEREINER, JOHANNA; e REIS, VERÔNICA MASSENA. **Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com bactérias**



**diazotróficas no comportamento bioquímico da cultivar de milho Nitroflint.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 33, n. 6, p. 961-970, jun. 1998.

MARIN, V. A.; BALDANI, V. L. D.; TEIXEIRA, K. R. dos S.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio: Bactérias Fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical. **Seropédica: Embrapa Agrobiologia**, 32 p, 1999.

MARINI, D. **Growth and yield of corn hybrids in response to association with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization.** Rev. Ceres, Viçosa, v. 62, n. 1, p. 117-123, jan/fev, 2015.

MASSUCHELLI, R. C. L. et al. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Colloquium Agrariae**, v. 10, n.2, Jul-Dez. 2014, p.40-47. DOI: 10.5747/ca.2014.v10.n2.a106

MORAIS, INGRID CARDOSO. **Comportamento de híbridos de milho submetidos à adubação nitrogenada e à inoculação com bactéria diazotrófica.** 2016. 85 f. Dissertação (Mestrado em fitotecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, Vitória da Conquista - BA.

MORAIS, GILDEAN PORTELA. **Comportamento de híbridos de milho adubados com nitrogênio e inoculados com diazotróficos associativos.** Fortaleza. 2014.

MORAIS, T. P. Aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímico do solo em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Rev. Ceres** vol.62 no. 6 Viçosa Nov./Dec. 2015.

PANDOLFO, C. M. et al. **Desempenho de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a doses de nitrogênio em cobertura.** Agropecu. Catarin., Florianópolis, v. 27, n. 3, p. 94-99, nov. 2014/fev. 2015.

PINOTTI, ELVIO BRASIL; ALMEIDA, DANIEL; ARAÚJO, HENRIQUE MANUEL; BARBOSA, ROGÉRIO ZANARDE; e PETÍLIO, ALEXANDRE ALVES. Características vegetativas de três cultivares de milho (*Zea mays* L.) sob quatro populações de plantas em espaçamento reduzido. **REVISTA CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE AGRONOMIA** – ISSN: 1677-0293. Ano VII – Número 15 – Periódicos Semestral; Junho de 2009.

QUADROS, Patrícia Dörr de. **Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: UFRGS, 2009. 62p. Dissertação Mestrado.

RAMOS, A. S.; SANTOS, T. M. C.; SANTANA, T. M.; GUEDES, E. L. F.; MONTALDO, Y. C. Ação do *Azospirillum lipoferum* no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Verde**. V.5, n.4, p. 113-117. 2010.

SANTOS, JOELMA DA SILVA. **Isolamento e inoculação de bactérias diazotróficas na cultura do milho em Vitória da Conquista - BA.** 2013. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, Vitória da Conquista - BA.

SILVEIRA, ÉRICO LEANDRO. **Inoculação de bactérias promotoras de crescimento no cultivo do arroz em solução nutritiva.** Jabotical, SP. 2008. Disponível em: <<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/micro/d/2049.pdf>>. Acesso em: 24 Novembro 2017.

SORATTO, ROGÉRIO PERES; PEREIRA, M.; COSTA, T. A. M.; LAMPERT, V. N. Fontes alternativas e doses de nitrogênio no milho safrinha em sucessão à soja. **Rev. Ciênc. Agron.** ISSN 1806-6690; vol.41, n.4, pp. 511-518; 2010.

TAGLIARI, LEONARDO PELLIZZARO. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada na cultura do milho cultivado sobre palhada de aveia e nabo.** Curitiba. Curitiba - SC. 2014. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/126676/TCC%20-%20Leonardo%20Pellizzaro%20Tagliari.pdf?sequence=5>>. Acesso em 01 de Jun 2017.

VARGAS, VITOR PAULO. **Manejo da adubação nitrogenada na recuperação de estresses em milho** [dissertação]. Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina; 2010.