

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

BERNARDO GADEA DA ROSA

**ASSOCIAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* COM DOSES DE ADUBAÇÃO
NITROGENADA NO DESEMPENHO AGRONOMICO DO MILHETO.**

**Itaqui
2023**

BERNARDO GADEA DA ROSA

**ASSOCIAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* COM DOSES DE ADUBAÇÃO
NITROGENADA NO DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHETO.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Orientador: Dr. Diego Bitencourt de David

**Itaqui
2023**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais).

da Rosa, Bernardo Gadea

ASSOCIAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* COM DOSES DE ADUBAÇÃO NITROGENADA NO DESEMPENHO AGRONOMICO DO MILHETO / Bernardo Gadea da Rosa.

29 p.

D111a Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade Federal do Pampa, AGRONOMIA, 2023.

"Orientação: Diego Bitencourt de David".

1. bactérias diazotróficas. 2. gramíneas. 3. fertilizantes nitrogenados. I. Título.

BERNARDO GADEA DA ROSA

**ASSOCIAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* COM DOSES DE ADUBAÇÃO
NITROGENADA NO DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHETO.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Orientador: Dr. Diego Bitencourt de David

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e Aprovado em 12 de julho de 2023.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Diego Bitencourt de David

Orientador

UNIPAMPA

Prof. Dr. Pablo de Souza Castagnino

UNIPAMPA

Prof. Dr. Bruno Neutzling Fraga

UNIPAMPA

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre guiar meus passos.

A meu pai Paulo e a minha mãe Adriane *in memoriam*, por me incentivarem aos estudos e me proporcionarem todo o apoio para que eu chegasse nesta etapa de minha vida.

A minha esposa Luzia e meu filho João Pedro, minha avó Vitalina, meus padrinhos Amauri e Eliane, pelo companheirismo e apoio em todos esses anos.

A minha irmã e meu cunhado pelo apoio incansável.

A meu orientador, Prof. Dr. Diego Bitencourt de David, pelo conhecimento compartilhado e pela orientação em todos as fases até aqui.

Ao Prof. Dr. Pablo de Souza Castagnino, que auxiliou significativamente na elaboração das análises laboratoriais realizadas para a conclusão do experimento.

Aos amigos conquistados durante a trajetória de Unipampa: Juliano Urquiza, Felipe Pradebon, Mauricio Locatelli, Maria Lorenza, Luciane, Eduardo, Rodrigo, Matheus Noetzold e todo o pessoal do laboratório 503, pois sem eles nada disso teria valido a pena. Especialmente a Ligiana Bartmer e Rafael Machado, que não mediram esforços para prestarem ajuda.

Muito obrigado!

RESUMO

A inoculação com bactérias diazotróficas em gramíneas é uma possibilidade promissora para elevar a produtividade e minimizar os riscos ambientais gerados pelos fertilizantes nitrogenados. O objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade de substituição parcial ou integral de fertilização química nitrogenada de cobertura por inoculação de *Azospirillum brasilense* em milho sem comprometer a produção forrageira. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 5 (Sem e Com *Azospirillum brasilense* e 5 doses de nitrogênio aplicado em cobertura), com quatro repetições, com total de 40 unidades experimentais. As unidades experimentais foram vasos com dimensões de 25cm x 15cm, contendo 10 litros de solo. A inoculação foi realizada com uso do inoculante NoduGram I, que contém estirpes de *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 na concentração de 2×10^8 Unidades Formadoras de Colônia.ml⁻¹, na dose recomendada de 100 ml.ha⁻¹. Foi realizado o tratamento de 40g de sementes de milho com 2 ml do produto. A produção de forragem não diferiu, mas houve tendência de aumento para doses de N. Para nitrogênio foliar, houve efeito tanto para doses de N quanto para inoculação, contudo os tratamentos inoculados apresentaram respostas para N foliar inferiores àqueles não inoculados. Quanto ao número de perfilhos e de folhas totais, houve efeito apenas para doses de N. Com base nesses resultados, não é possível substituir parcial ou integralmente a fertilização química por inoculação com *Azospirillum brasilense* sem comprometer a produção de forragem de milho.

Palavras-chave: bactérias diazotróficas; gramíneas; fertilizantes nitrogenados.

ABSTRACT

Inoculation with diazotrophic bacteria in grasses has been presented as a promising possibility to increase productivity and minimize the environmental risks generated by nitrogen fertilizers. Thus, this work aims to study the possibility of partially or totally replacing chemical fertilization, without compromising the production of millet forage, through the use of *Azospirillum brasilense*. A completely randomized design was used in a 2 x 5 factorial scheme (with and without *Azospirillum brasilense* and 5 doses of nitrogen- N applied after germination), with four replications, totaling 40 experimental units. The experimental units were vases with dimensions of 25cm x 15cm, containing 10 liters of soil. Inoculation was performed using the inoculant NoduGram L, which contains strains of *Azospirillum brasilense* Ab-V5 and Ab-V6 at a concentration of 2×10^8 Colony Forming Units.mL⁻¹, at the recommended dose of 100 mL/ha. 40g of pearl millet seeds were treated with 2 ml of the product. Forage production did not differ, even though there was a tendency to increase for doses of N. For leaf nitrogen, there was an effect both for doses of N and for inoculation, however, the inoculated treatments showed responses to leaf N lower than those not inoculated. Regarding the number of tillers and number of total leaves, an effect was presented only for doses of N. Based on these results, it is not possible to partially or fully replace chemical fertilization by inoculation with *Azospirillum brasilense* without compromising millet forage production.

Keywords: diazotrophic bacteria; grasses; nitrogen fertilizers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Local de condução do experimento (A), Unidades experimentais (B), Inoculação e semeadura (C).....	16
Figura 2 - Aplicação de N em cobertura (A), Determinação da altura de corte (B), Experimento em condução (C).....	18
Figura 3 - Nitrogênio foliar em função do desdobramento das doses de nitrogênio em cobertura na presença ou ausência de inoculante <i>Azospirillum brasilense</i>	21
Figura 4 - Relação entre as doses de nitrogênio em cobertura com o número de perfilhos (A) e número de folhas totais (B).....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios da produção de forragem (PF) e gramas por vaso, concentração de nitrogênio da forragem (Nf) em porcentagem na matéria seca, número de perfilhos (NP) e número de folhas totais (NFt) em função das doses de N em cobertura e do uso ou não da inoculação da semente com <i>Azospirillum brasilense</i>	19
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Milheto (<i>Pennisetum glaucum</i> L).....	13
2.2 Fertilizantes nitrogenados.....	14
2.3 <i>Azospirillum brasilense</i>.....	14
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	23
REFERÊNCIAS.....	24

1 INTRODUÇÃO

O milheto (*Pennisetum glaucum* L.) é uma gramínea anual de verão que pode ser cultivada para a cobertura do solo em sistema de plantio direto para a produção de silagem, grãos ou forragem para alimentação animal. Na região Sul do País, é utilizado principalmente como forragem, pois seu potencial produtivo pode atingir 20 ton/ha de matéria seca, quando cultivado nos meses de setembro e outubro e, sob condição de pastejo, com bovinos de recria, pode proporcionar ganhos de até 600 quilos/hectare de peso vivo, ou 20 arrobas/hectare de carne em 150 dias de pastejo, equivalente a ganhos médios diários de 950 gramas/animal, com 4,2 animais/hectare. (PEREIRA FILHO, 2016).

Segundo Landau e Pereira Filho (2009), o milheto possui alta adaptabilidade a solos ácidos e de baixa fertilidade, os quais são extremamente limitantes para o cultivo do milho, do sorgo e de outras culturas. A boa adaptação advém do sistema radicular profundo, que pode atingir mais de dois metros, e abundante, que aumenta a capacidade de extração de nutrientes (LANDAU; PEREIRA FILHO, 2009). Além disso, essas características permitem maior tolerância ao déficit hídrico prolongado e rápido desenvolvimento com boa produção de grãos ou de massa verde (DURÃES et al., 2003). Para o segundo caso, são necessárias adubações principalmente em relação ao nitrogênio (N), por ser um dos nutrientes fundamentais. O nitrogênio é encontrado no solo tanto como componente de material orgânico quanto na forma mineral, porém apresenta suprimento limitado (COSTA et al., 2006). Assim, para a melhoria da produtividade e da qualidade de forragem, especialmente na intensificação do sistema de produção, torna-se necessária a reposição de nutrientes na pastagem, sobretudo N (CANTARUTTI; SANTO, 2002).

A adubação nitrogenada é empregada a fim de suprir a necessidade de nitrogênio. Entretanto, o impacto negativo da utilização de fertilizantes no ecossistema pode elevar os custos e prejudicar as interações entre planta-solo-microrganismos (ADEWOPO et al., 2014) quando usado em altas doses. De maneira geral, isso tem suscitado o interesse por inoculantes de bactérias capazes de promover o crescimento e incrementar a produtividade das plantas (HUNGRIA, 2011) de uma forma mais natural e constante, o que pode reduzir os riscos ambientais e econômicos.

As bactérias do gênero *Azospirillum*, do grupo das rizobactérias diazotróficas, se destacam porque promovem a fixação de nitrogênio, produção de fitohormônios

(em especial auxinas, que estimula o alongamento celular das plantas) e sideróforos (compostos orgânicos que atuam na captação de ferro pelos organismos como bactérias), solubilização de fosfato e produção de ácidos orgânicos o que possibilita melhor aproveitamento de nutrientes pelos vegetais (REIS et al., 2010). Nesse contexto, o objetivo neste trabalho foi verificar viabilidade de substituição parcial ou integral de fertilização química nitrogenada de cobertura por inoculação de *Azospirillum brasilense* em milho sem comprometer a produção forrageira.

2 CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Milheto (*Pennisetum glaucum* L.)

Garcia e Duarte (2010) relatam que os primeiros registros da planta no Brasil datam de 1929, no estado do Rio Grande do Sul, na Estação Zootécnica de Montenegro. A cultura do milheto é bastante versátil uma vez que pode ser utilizada para pastoreio do gado, como grãos para silagem; como forrageira conservada na pecuária de corte e leite e para cobertura do solo em sistema de plantio direto (GARCIA; DUARTE, 2009). Trata-se de uma forrageira de verão originária da África, tendo a Índia como seu segundo centro de origem (SILVA et al., 2015). Nessas regiões é consumido na alimentação humana devido ao elevado potencial nutritivo dos grãos e na alimentação animal como forragem e grãos (PACHECO et al., 2007).

O milheto é uma gramínea cespitosa, de porte ereto e perfilhamento farto, cuja altura do colmo pode ser superior a 3,0 m. De 50 a 55 dias depois da emergência, é possível atingir 1,5 m. Possui folhas longas (20 a 100cm) com lâminas largas (5 a 10cm) e bordos serrados, com lígula pilosa, sendo a inflorescência uma panícula cilíndrica e longa (10 a 50 cm de comprimento e 0,5 a 4,0 cm de diâmetro) (FONTANELI et al., 2009). Apresenta um ciclo produtivo de 60 a 90 dias para as cultivares precoces ou de 100 a 150 dias para as tardias, com temperatura ideal de 28 a 30 °C (LANDAU; PEREIRA FILHO, 2009). Em termos qualitativos, o teor de proteína bruta varia de 7% a mais de 20% (FONTANELI et al., 2009) e níveis relativamente baixos de FDN quando comparado com outras espécies forrageiras tropicais, dependendo da contribuição de folhas na forragem amostrada, o que permite bons ganhos de peso quando pastejado por bovinos de corte.

A produtividade do milheto relaciona-se às condições climáticas, época de semeadura, fertilidade do solo, época de corte, estágio de desenvolvimento e cultivar utilizada (SILVA, 2016). De acordo com Herrada et al. (2017), o milheto apresenta elevada tolerância a climas secos e altas temperaturas, devido ao seu sistema radicular profundo, capaz de captar água e nutrientes. Segundo Padovan et al. (2011), por apresentar elevado acúmulo de biomassa e nutrientes na parte aérea das plantas, o milheto consiste em uma alternativa altamente promissora para adubação verde. Além disso, é resistente às principais pragas, reduz a população de nematóides, como o *Meloidogyne incógnita* e *javanica*, *Pratylenchus brachyurus* e *Rotylenchulus*

reniformis, e pode ter um bom aproveitamento pela pecuária, já que é um ótimo complemento aos capins que apresentam baixos teores de carboidrato e proteína (ALMEIDA; FERREIRA, 2012).

2.2 Fertilizantes nitrogenados

Fertilizantes são substâncias químicas, de origem orgânica ou inorgânica, empregadas na nutrição do solo para aumentar a produtividade e qualidade do produto final (REETZ, 2016). Assim, Gonçalves et al. (2020) dão destaque à adubação nitrogenada, que, segundo Messias et al (1998), consiste em uma complementação da capacidade de suprimento de nitrogênio dos solos. Contudo, as fertilizações químicas nitrogenadas são de altos custo e podem ser parcialmente perdidas por processos de lixiviação, desnitrificação, volatilização e escoamento superficial, o que diminui a eficiência do produto e pode causar problemas ambientais (GALLOWAY et al., 2008). Dentre os fertilizantes nitrogenados, a ureia é o que mais propenso a perdas de N (PEREIRA et al., 2009).

A ureia é o fertilizante nitrogenado sólido predominante no mercado brasileiro e mundial. Entre as vantagens de Ureia como fonte de nitrogênio, é a alta concentração e o menor custo em relação a outras fontes N. (CANTARELLA, H., 2023)

Vários estudos se fundamentam na necessidade de maior exploração do potencial de fixação biológica do nitrogênio e do uso de bactérias que promovam o crescimento e incrementem a produtividade das plantas, de forma econômica, sustentável e com menor dependência de importação desses insumos (HUNGRIA, 2011; SANTOS, 2013).

2.3 *Azospirillum brasilense*

O *Azospirillum brasilense* é uma bactéria, com capacidade de fixação de nitrogênio e colonização de todas as partes da planta, em especial as raízes, de grande variedade de espécies gramíneas (BASHAN; HOLGUIN, 1997). É considerada uma bactéria diazotrófica promotora de crescimento de plantas, devido ao seu potencial de fixação biológica de nitrogênio e de produção de fitohormônios, como auxinas, citocininas, giberilinas e etileno, que contribuem para melhora da nutrição mineral e da utilização de água pelas plantas (OKON; VANDERLEYDEN, 1997).

Segundo os mesmos autores, o *A. brasilense* aumenta a atividade de redutase do nitrato (reduz o nitrato a nitrito para então ser reduzido a amônia) para ser absorvido pela planta e promover o crescimento.

Segundo Hungria et al. (2016), o *A. brasilense* é o microrganismo mais estudado para inoculação em gramíneas de interesse agrônômico no Brasil, em associação ou não a outros tratamentos. Dessa maneira, pesquisadores como Oliveira et al. (2007), Schumacher et al. (2021) e Da Silva Filho (2020) apontaram resultados promissores para a inoculação com *A. brasilense*, enquanto outros autores, como Júnior et al. (2021) e Gonçalves et al. (2020) verificaram a eficiência da utilização da bactéria apenas em associação à adubação nitrogenada. Já Silva e Pires (2017) e Neumann et al. (2016) concluíram que o *A. brasilense* não substitui os fertilizantes nitrogenados. Araújo et al. (2014), em experimento com milho verde, concluíram que ocorreu aumento significativo na quantidade e na massa das espigas comerciais com a inoculação de *A. brasilense* em relação ao tratamento sem inoculação. Em divergência, Repke et al. (2013) constataram que aplicação de *A. brasilense* via solução nas sementes, com ou sem doses de nitrogênio sintético, não interferiu no desenvolvimento das plantas e na produtividade da cultura do milho.

Segundo Dobbelaere et al. (2002), a bactéria *Azospirillum* pode atuar no controle biológico de patógenos, devido ao seu composto β -cariofileno. Esse composto demonstra capacidade de melhorar a resistência das plantas ao ataque de pragas. Conforme Ikeda (2010), esse conjunto de melhorias resultaria do potencial da bactéria de estimular o aumento do sistema radicular das plantas, fator que determina maior absorção de água e minerais. Oliveira et al. (2006) afirmam que, devido à maior disponibilidade de N no solo gerada pela inoculação com *A. brasilense*, as plantas passam a fazer uso mais eficiente da radiação solar, o que gera maior taxa de crescimento e maior produção de matéria seca.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período 24 de outubro de 2022 a 20 de janeiro de 2023, na área experimental da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA - Campus Itaqui, localizada nas coordenadas geográficas de latitude 29°12'28''S e longitude 56°18'28''O. O solo utilizado foi retirado do campo experimental e é do tipo Plintossolo Háptico (DOS SANTOS, 2018). Conforme a classificação de Köppen, o clima é do tipo Cfa subtropical, com verão quente (temperaturas superiores a 22°C) e invernos frios, com valores abaixo de 10°C (AYOADE, 1996).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 5 (sem ou com *Azospirillum brasilense* e 5 doses de nitrogênio), com quatro repetições, totalizando 40 unidades experimentais. As unidades experimentais foram vasos com dimensões de 25cm x 15cm, contendo 10 dm³ de solo (Figura 1A e 1B).

No dia 02/11/2022, foram efetuadas a inoculação e a semeadura (Figura 1C) com uso do inoculante NoduGram L, que contém estirpes de *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 na concentração de 2×10^8 Unidades Formadoras de Colônia/ml, na dose de 100 ml/ha recomendada pelo fabricante. Para facilitar o processo de inoculação, feito o tratamento de 40g de sementes de milho com 2 ml do produto.

Figura 1 - Local do experimento (A), Unidades experimentais(B), Inoculação e Semeadura (C).



Fonte: O Autor.

Foi feita adubação de base de fosforo (P) e potássio (K) com as doses de 200 mg/dm³ e 300 mg/dm³ respectivamente. A fertilização nitrogenada foi realizada apenas em cobertura para reduzir o risco de intoxicação por nitrogênio mineral na fase pré-emergência. As aplicações de N foram determinadas pela recomendação de uso para adubação em vaso, de 300 mg/dm³ como dose 100%, sendo escalonadas de 0% (0mg/dm³), 50% (150mg/dm³), 100% (300mg/dm³), 150% (450mg/dm³) e 200% (600mg/dm³) para atender os tratamentos de doses de N. No dia 05/11/2022, foi observado o início da emergência. As aplicações de N foram divididas em 3 etapas, sendo a primeira pós-emergência, a segunda no perfilhamento e a terceira, antes do segundo corte.

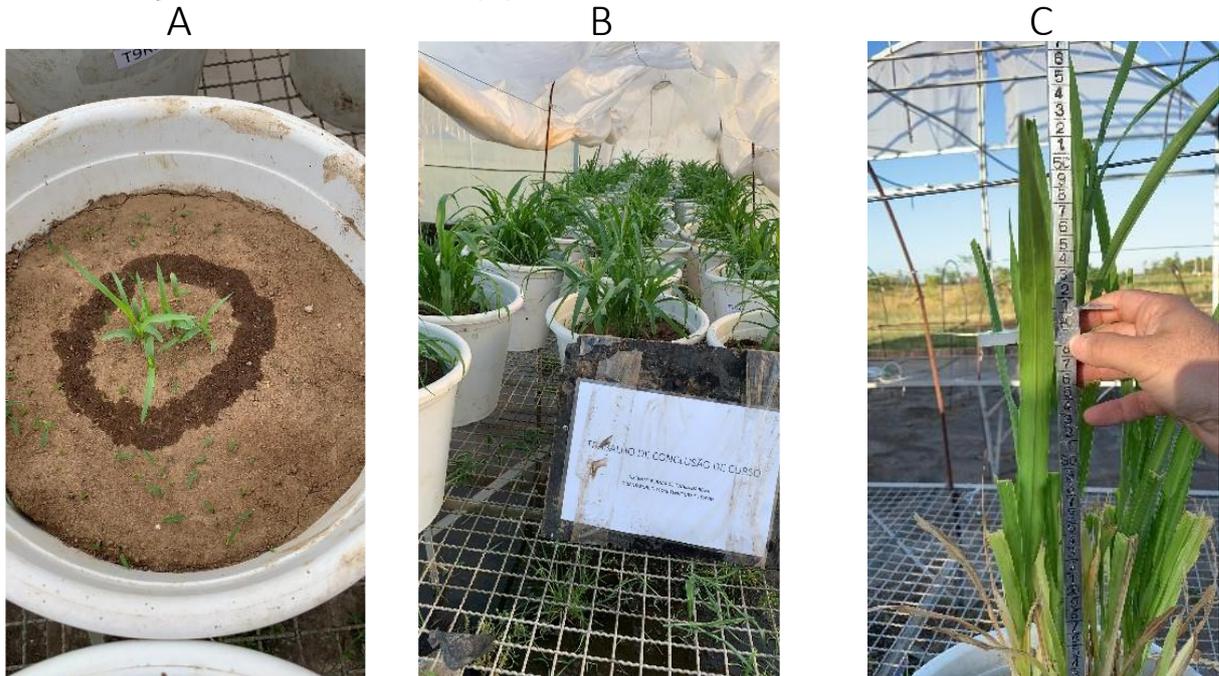
A irrigação foi feita manualmente por meio de regador utilizando uma quantia fixa e limitada por vaso para evitar escorrimento. A proteção de fatores de variação por perdas de nutrientes por excesso hídrico, precipitação pluviométrica, deu-se por meio de cobertura plástica dos vasos. Ao longo do experimento no período diurno, as lonas foram levantadas para evitar o aquecimento demasiado (excesso de temperatura no ambiente fechado).

As variáveis respostas mensuradas (Figura 2B) em quatro plantas por unidade experimental foram as seguintes: características estruturais da planta (densidade populacional de perfilhos e número de folhas por perfilho. Anteriormente a cada corte, foram mensuradas as variáveis número de perfilhos e número de folhas total por planta.

Para determinação do momento do corte (Figura 2C), foi utilizada a recomendação de altura de corte de 40 cm e rebaixamento de aproximadamente 40%, com resíduo de aproximadamente 25 cm de altura (FONSECA et al., 2012).

As mensurações de nitrogênio foliar e produção de matéria seca (MS), foram analisadas no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal da Unipampa – Campus Itaqui.

Figura 2 - Aplicação de N em cobertura (A), Experimento em condução (B) e Determinação da altura de corte (C).



Fonte: O Autor.

Após o corte, a produção total de forragem foi pesada e enviada para laboratório para realização da Matéria Pré-Seca (MPS) em estufa de circulação de ar forçado a 55 °C por 72 horas (AOAC, 1975). Após pré-seca, a produção total de forragem foi obtida pelo peso total de MPS.

A amostra parcialmente seca foi moída em moinho tipo Wiley, com peneiras de 1mm e analisadas para nitrogênio foliar (FARRUGGIA et al., 2004) pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1975). E matéria seca total (MST) em estufa a 105 °C por 12 horas (AOAC, 1975), a fim de possibilitar a correção dos valores de N para matéria seca.

O modelo estatístico considerou os fatores inoculação e doses de nitrogênio e suas interações, e os resultados foram comparados através do teste F a 5% de probabilidade de erro. Para as doses de nitrogênio que apresentaram efeito, foi realizada análise de regressão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de forragem não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos, mas houve tendência de aumento para doses de N. Possivelmente, esse fato decorreu da alta variabilidade entre repetições. Houve produção de 6,27 g de MS/vaso na dose de N recomendada (300 mg/dm^3). Ao comparar com a dose 0 de N, foi superior em 18,02%, mas quando comparado à maior dose de N (600 mg/dm^3), houve diferença de 17,17% ou produção inferior de 7,57 g/vaso de MS.

Não foi verificada interação significativa entre a inoculação de *A. brasilense* com a adubação nitrogenada para as variáveis avaliadas (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores médios dos cortes para produção de forragem (PF; gramas de matéria seca por vaso), concentração de nitrogênio da forragem (Nf), número de perfilhos (NP) e número de folhas totais (NFt) em função das doses de N em cobertura e do uso ou não da inoculação da semente com *Azospirillum brasilense*.

Tratamentos		PF (g de MS)	Nf (% MS)	NP Unidade	NFt Unidade
Inoculação (I)					
Não Inoculado		6,39	3,74	1,95	14,12
Inoculado		6,40	3,40	2,15	15,16
		6,39	3,74		
Doses de N					
0 (mg/dm^3)		5,14	1,87	1,65	12,18
150 (mg/dm^3)		5,94	3,19	2,00	14,81
300 (mg/dm^3)		6,27	3,96	1,94	14,31
450 (mg/dm^3)		7,05	4,46	2,22	15,87
600 (mg/dm^3)		7,57	4,39	2,44	16,03
	I	0,9757	0,0031	0,2353	0,1636
F	N	0,2063	<0,0001	0,0467	0,0092
	IxN	0,9039	0,6886	0,2541	0,3464
RQME*		3,39	0,56	1,06	4,68

*RQME=Raiz do Quadrado Médio do Erro

Fonte: O Autor

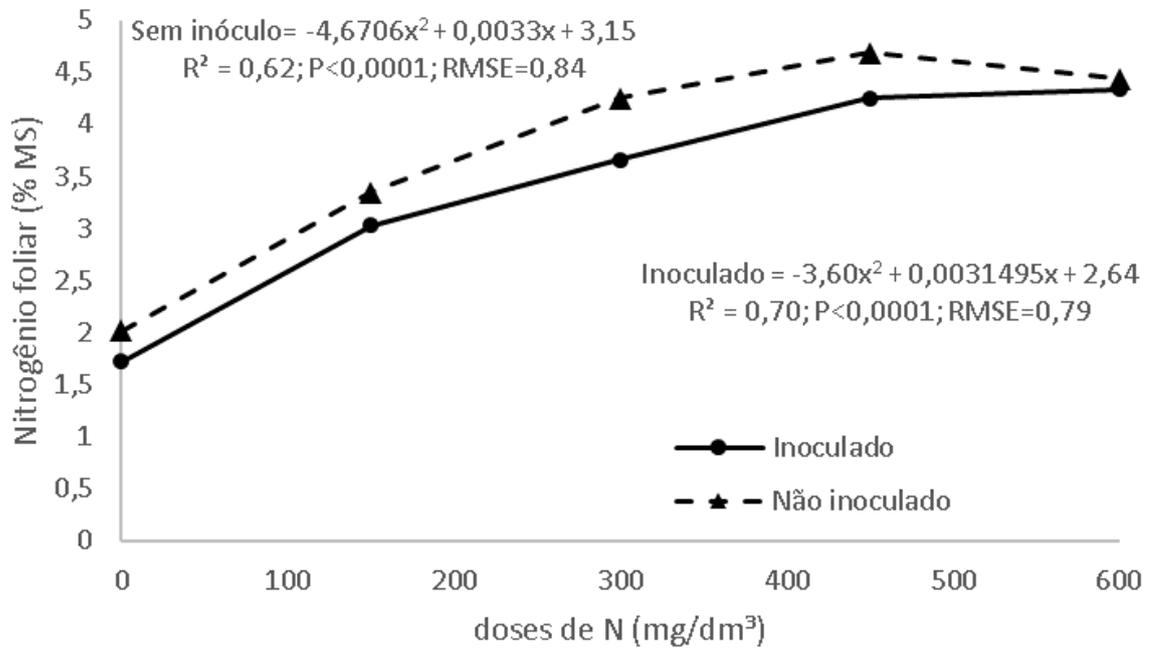
Segundo Mehnaz e Lazarovits (2006), ainda não se encontram elucidadas as diversas condições que podem interferir nas respostas à inoculação com *A. brasilense*. Assim, fatores ambientais, como temperatura, teor de umidade, concorrência com microrganismos; genótipo da planta em estudo; características do solo, além das especificidades do inoculante são elementos que devem ser considerados (DOBBELAERE et al., 2002).

Em oposição aos resultados deste estudo, o maior acúmulo de forragem constatado por Aguirre et al. (2018), em experimento com *Cynodon (Croastcross)*, deu-se no tratamento com estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *Azospirillum brasilense* em relação ao tratamento com fertilização nitrogenada.

Para nitrogênio foliar (Figura 3), houve efeito tanto para doses de N quanto para inoculação. Contudo, os tratamentos inoculados apresentaram respostas menores para N comparados ao não inoculados. Possivelmente, a eficiência do inoculante pode ter sido reduzida ou até mesmo anulada pela utilização do fertilizante nitrogenado, o que gera inibição da nitrogenase em bactérias ao inviabilizar a conversão do nitrogênio atmosférico (LOPES, 2007). Isso porque o organismo demanda por condições favoráveis para a fixação biológica do N, como umidade do solo, pH na faixa de 5,5 e 6,5, temperaturas entre 25 a 32 graus e também a população de microrganismos disponíveis no tratamento de semente. Ainda, as especificidades do solo ou até mesmo as altas temperaturas podem ter interferido na dispersão do inóculo.

Esse resultado anula a hipótese em estudo. Como também de diversos trabalhos da literatura, como o experimento de Quadros (2009) em cultura de milho, que verificou que a inoculação é capaz de suprir parte do nitrogênio necessário com adição de 50kg/ha de N associados à inoculação de *A. brasilense* e correspondeu à aplicação de 130 kg/ha de N. Da mesma forma, Portugal et al. (2012) observaram que a inoculação com *A. brasilense*, apresentou aumento no teor de N foliar em plantas de milho, atribuindo o resultado à capacidade da bactéria de fixação biológica de N e aumento do volume do sistema radicular, o que possibilitaria à planta melhor exploração do solo e, conseqüentemente maior concentração de N foliar.

Figura 3 – Nitrogênio foliar em função do desdobramento das doses de nitrogênio em cobertura com ou sem inoculação de *Azospirillum brasilense*.



Fonte: O Autor

Em relação ao número de perfilhos (Figura 4A) e número de folhas totais (Figura 4B), foi apresentado efeito apenas para doses de N, o que demonstra coerência com a melhoria da fertilidade quando a planta é avaliada individualmente. As doses de N influenciaram positivamente na produção de perfilhos, pois houve aumento de cerca de 29% no número de perfilhos por planta, na dose maior de N (300 mg/dm³) fornecido às plantas.

O número de folhas totais também teve um bom índice, quando fornecida a dose de 300 mg/dm³ de N à planta, com uma produção média de 14,31 folha por planta. Mas, quando aumentada a dose para 450 mg/dm³ e 600 mg/dm³ de N, houve a produção média de 15,87 e 16,03 folhas por planta respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si. Portanto, ao serem aplicadas doses maiores que a recomendada, não houve efeito adicional na produtividade. Doses superiores à recomendação podem provocar toxidez às plantas, não ocorrendo acréscimos consideráveis.

Figura 4 - Relação entre as doses de nitrogênio em cobertura com o número de perfilhos (A) e número de folhas totais (B)

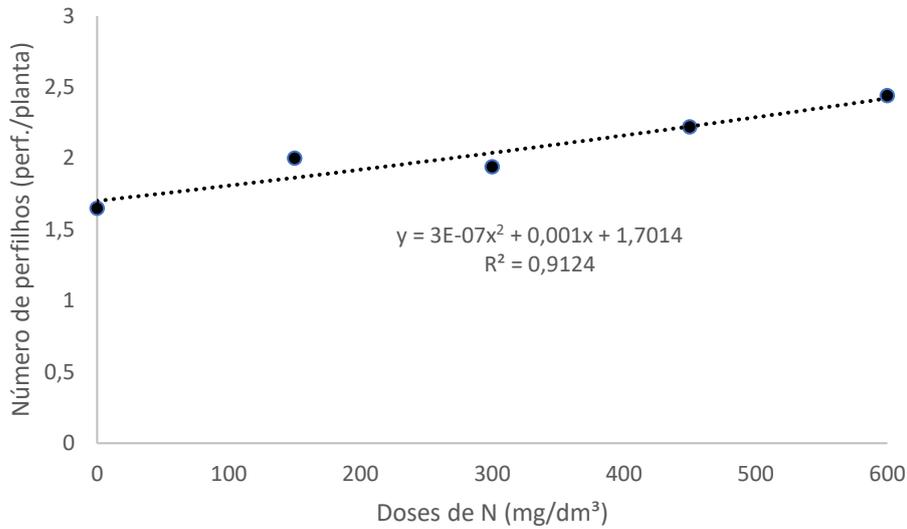


Figura 4 (A): Fonte: O Autor

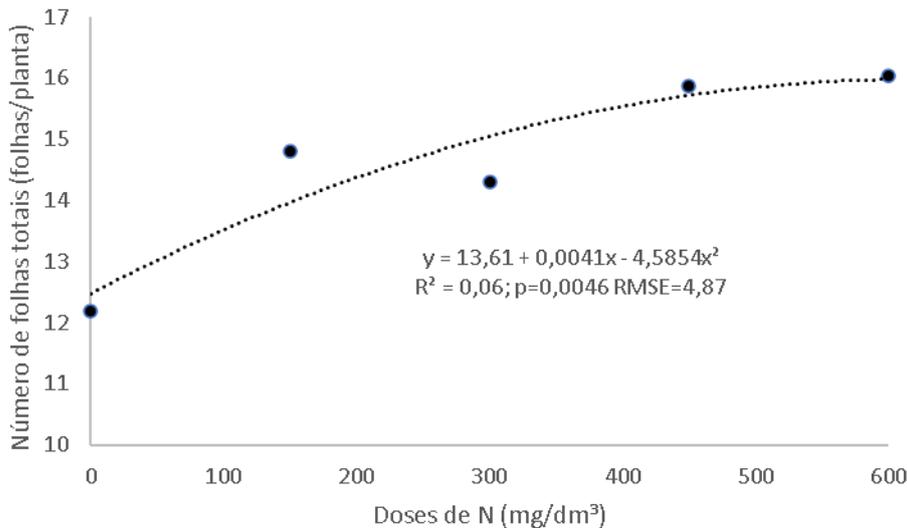


Figura 4(B): FONTE: O Autor.

Doses de N além da recomendação podem provocar toxidez às plantas, sem a ocorrência de acréscimos consideráveis. A importância dessas variáveis morfológicas está relacionada ao aumento do índice de área foliar e consequentemente ao aumento de interceptação luminosa, logo, mais luz sendo captada, espera-se maior acúmulo de biomassa. Corroborando os resultados desta pesquisa, Pedreira et al. (2017) constataram que a inoculação com *Azospirillum brasilense* não teve impacto sobre a densidade populacional e a dinâmica do perfilhamento em pastos de capim-marandu *paliçádeo*, atribuindo o resultado à influência de variáveis climáticas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados experimentais permitem afirmar que, para as condições testadas, não houve efeito da inoculação no aumento de produtividade, bem como, nas variáveis morfológicas ou mesmo químicas da planta. As respostas positivas encontradas na condição de estudo foram influenciadas pelas doses de N. Com base nesses resultados, não é possível substituir parcial ou integralmente a fertilização química por inoculação com *Azospirillum brasilense* sem comprometer a produção de forragem de milheto.

REFERÊNCIAS

ADEWOPO, J. B.; VANZOMEREN, C.; BHOMIA, R.K.; ALMARAZ, M.; BACON, A.R.; EGGLESTON, E.; JUDY, J.D.; LEWIS, R. W.; LUSK, M.; MILLER, B. Top ranked priority research questions for Soil Science in the 21st Century. **Soil Science Society of American Journal**, v.78, p. 337-347, 2014.

AGUIRRE, P. F.; OLIVO, C.; SAUTHIER, J.; SAUTER, M.P. Valor nutritivo da Coastcross-1 inoculada com *Azospirillum brasilense*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 6, p. 1997–2006, nov. 2018.

ALMEIDA, I.L.; FERREIRA, L. T. **Milheto é cultura alternativa para cobertura de solo**. Embrapa. 2012. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/1460918/milheto-e-cultura--alternativa-para-cobertura-de-solo-> Acesso em: 18 fev 2023.

AOAC. (1975). **Official Methods of Analysis**, 12th edn, Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

ARAÚJO, R.; ARAÚJO, A.S.F.; NUNES, L.A.P.; FIGUEIREDO, M.D.U. Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.9, p.1556-1560, set, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9977>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/pn3jLP54rC6hSrwqwqVCVFg/?format=pdf> Acesso em: 23 abr 2023.

AYOADE, J. O. **Introdução à climatologia para os trópicos**. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 1996. 332 p. 4^a ed. Tradução de Maria Juraci Zani dos Santos.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. Azospirillum-plant relationships: environmental and physiological advances. **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, n.2, p.103-121, 1997.

CANTARELLA, H. **Opções de fontes de nitrogênio para a agricultura brasileira**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2023, 18p. Documentos IAC, 120. Versão on-line. ISSN 1809-7693. Disponível em: <https://www.iac.sp.gov.br/publicacoes/arquivos/documentoiac120.pdf> . Acesso em 13 jun. 2023.

CANTARUTTI, R.B.; SANTO, H.Q. **Entrada e conservação de nutrientes nos sistemas de produção de bovinos a pasto**. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 3., 2002, Viçosa, MG. Anais...Viçosa, MG: SIMCORTE, p.133-152, 2002.

COSTA, K.A.P.; OLIVEIRA, I.P.; FAQUIM, V. **Adubação nitrogenada para pastagens do gênero *Brachiaria* em solos do Cerrado**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. 60 p., 2006.

DA SILVA FILHO, W. 2020. **Eficiência do *Azospirillum brasilense* associado à adubação nitrogenada sobre as características agronômicas do milho e valor nutricional de sua silagem.** 50 p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Montes Claros – Janaúba, 2020.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACECK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, v.36, p.284-297, 2002

DOS SANTOS, H.G.; JACOMINE, P.K.T.; DOS ANJOS, L.H.C.; OLIVEIRA, V.A.; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIDA, J.A.; ARAÚJO FILHO, J.C.; OLIVEIRA, J.B.; CUNHA, T.J.F. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.** 5 ed. Embrapa Solos, 2018. 353 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/solos/sibcs> Acesso em: 28 jan 2023.

DURÃES, F.O.M.; MAGALHÃES, P.C.; SANTOS, F. G. **Fisiologia da Planta de Milheto.** In: Circular Técnica 28. Embrapa. Sete Lagoas, 2003, 16 p.

FARRUGGIA, A.; GASTAL, F.; SCHOLEFIELD, D. Assessment of the nitrogen status of grassland. **Grass and Forage Science**, v.59, p.113-120, 2004.

FONSECA, L.; MEZZALANA, J.C.; BREMM, C.; CAMPANHARO, M.; PIMENTEL, A.J.B. Management targets for maximising the short-term herbage intake rate of cattle grazing in Sorghum bicolor. **Livestock Science**, Volume 145, Issues 1–3, 2012, p. 205-211.

FONTANELI, REN. S.; SANTOS, H. P. dos; FONTANELI, ROB. S. **Forageiras para integração lavoura-pecuária-floresta na região sul-brasileira.** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009. Cap. 10, p. 185-197.

GALLOWAY, J. N.; TOWNSEND, A.R.; ERISMAN, J.W.; BEKUNDA, M.; CAI, Z.; FRENAY, J.R.; MARTINELLI, L.A.; BEITZINGER, S.P.; SUTTON, M.A. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. **Science**, v. 320, p. 889-892, 2008.

GARCIA, J. C.; DUARTE, J. O. **Cultivo do Milheto.** 2 ed. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, 2009. ISSN 1679-012X Versão Eletrônica. Disponível em: <http://efaidnbmnnnibpcajpcqqlcflndmkaaj/https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27378/1/Importancia-economica.pdf> Acesso em: 27 jan 2023.

GONÇALVES, M. C.; SILVA, K.C.; OLIVEIRA, C.E.S.; STEINER, F. Nitrogênio e *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar. **Colloquium Agrariae**, 2020, 16, p. 72-81.

HERRADA, M. R.; LEANDRO, W. M.; FERREIRA, E. P. B. Leguminosas isoladas e consorciadas com milho em diferentes sistemas de manejo do solo no feijão orgânico. **Terra Latino Americana**, v. 35, n.4, p. 293-299, 2017.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. – (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 1516-781X; n.325)

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAÚJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and *Azospirilla*: Strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**. 49(7):791-801, 2013.

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, jan. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.01.024>.

IKEDA, A. C. **Caracterização morfofisiológica e genética de bactérias endofíticas isoladas de raízes de diferentes genótipos de milho (*Zea mays L.*)**. 2010. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

JÚNIOR, J.A.; FREITAS, J.M.; REZENDE, C.F.A.2021. Produtividade do milho associado à inoculação com *Azospirillum brasilense* e diferentes doses de adubação nitrogenada. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, e42810212711, 2021 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12711>

LANDAU, E. C.; PEREIRA FILHO, I. A. **Cultivo do Milheto**. 2.ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de produção, 3. ISSN 1679-012X Versão Eletrônica - 1ª edição Set./2009. Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milheto_2_ed/clima.html Acesso em: 14 mar 2023.

LOPES, A.S. (2007) **Fixação biológica do nitrogênio no sistema solo-planta**. In: I Simpósio Sobre Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira, Piracicaba. Anais, IPNI Brasil, p.43-72.

MEHNAZ, S.; LAZAROVITS, G. 2006. Inoculation effects of *Pseudomonasputida*. *Ghiconacetobacter* azotocaptans. and *Azospirillum lipoferum* on com plant growth iinder greenhouse conditions. **Microbial Ecology**. New York. v. 51, n. 3, p. 326-335

MESSIAS, A.S.; SILVA, D.J.; FREIRE, F.J.; SILVA. M.C.L. 1998. **Fertilizantes**. In: Recomendações de adubação. P 83-97. Embrapa. Disponível <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/161219> Acesso em: 04 mar 2023.

NEUMANN, M. M.; SPADOTTO, D.V.; SILVA, L.A.; CRESTANI, N.; SANTOS, F.M. **Efeito de diferentes doses de *Azospirillum brasilense* via semente e aplicação de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 31, 2016, Bento Gonçalves, p. 487-490.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. **Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants**. Applied and Environment Microbiology, Washington, v.6, n.7, p.366-370, 1997.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal**. Seropédia: Embrapa Agrobiologia, 2003. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/624875> Acesso em: 22 fev 2023.

OLIVEIRA, A.O.; OLIVEIRA, W. S.; JUNIOR W.B. **Produção de forragem e qualidade de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com *Azospirillum brasilense* e fertilizada com nitrogênio**. Embrapa; Circular Técnica 54. São Carlos-SP, p.6, 2007.

OLIVEIRA, A.L.M.; CANUTO, E.L.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M.; BALDANI, J. I. Yield of micropropagated sugarcane varieties in diferente soil types following inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, v. 284, n. 1, p. 23-32, 2006.

PACHECO, L.P.; PETTER, F.A.; CÂMARA, A.C.F.; LIMA, D.B.O.; PROCÓPIO, S.O.; BARROSO, A.L.V.; CARGNELUTTI FILHO, A.; SILVA, I.S. Tolerância do milheto (*Pennisetum americanum*) ao 2, 4-D. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 173–179, jan. 2007.

PADOVAN, M.P.; MOTTA, I de S; CARNEIRO, L.F.; MOITINHO, M.R. **Estádio mais Adequado de Manejo do Milheto para Fins de Adubação Verde**. ISSN 1679-0472. Dourados, MS Comunicado técnico Embrapa.2011.

PEDREIRA, B.C.; BARBOSA, P.L.; PEREIRA, L.E.T.; MOMBACH, M.A.; DOMICIANO, L.F.; PEREIRA, D.H.; FERREIRA, A. Tiller density and tillering on *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, 4, p. 1039–1046, jul. 2017.

PEREIRA FILHO, I.A. **Cultivo do milheto**. 5 ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. Disponível em: https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1qa1ceportlet&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_sistemaProducaold=8101&p_r_p_-996514994_topicold=9018#. Acesso em: 08 jan 2023.

PEREIRA, H.S.; LEÃO, A.F.; VERGINASSI, A.; CARNEIRO, M.A.C. Ammonia volatilization of urea in the out-of-season corn. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1685-1694, 2009.

PORTUGAL, J.R.; ARFF, O.; LONGHI, W.V.; GITTI, D.C.; BARBIERI, M.F.K.; GONZAGA, A.R.; TEIXEIRA, D.S. **Inoculação com *Azospirillum brasilense* Via Foliar Associada à Doses de Nitrogênio em Cobertura na Cultura do Milho**. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 29, Águas de Lindoia, p. 1413-1419, 2012.

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

REETZ, H. **Fertilizantes e o seu uso eficiente.** Tradução: Alfredo Scheid Lopes. – São Paulo: ANDA, 2017. 178 p.: il; PDF. Disponível em: [efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://ufpa.br/dcom/wp-content/uploads/2018/03/Fertilizantes-e-seu-uso-eficiente-](https://ufpa.br/dcom/wp-content/uploads/2018/03/Fertilizantes-e-seu-uso-eficiente-). Acesso em: 02 mar 2023.

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. UNESP, Botucatu, SP. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.12, n.3,p. 214-226, 2013.

SANTOS, C.A.; GOMES, M. A. F. **Perdas de nutrientes.** Embrapa Meio Ambiente, 2021. Disponível em: <http://embrapa.br/agencia-de-informação-tecnologia/tematica/agricultura/agricultura-e-meio-ambiente/qualidade/residuos/perdas-de-nutrientes/>. Acessado em 13 jun. 2023.

SANTOS, A. F. J.; DINNAS, S. S. E.; FEITOZA, A.F. Qualidade microbiológica de bioprodutos comerciais multiplicados *on farm* no Vale do São Francisco: dados preliminares. **Enciclopédia Biosfera**, v.17. p.429-443, 2020.

SANTOS, F.; PENAFLORES, M.F.; PARE, P.W.; SANCHES, P.A.; KAMIYA, A.C.; TONELLI, M.; NARDI, C.; BENTO, J.M.S. **Uma nova interação entre rizobactérias benéficas para as plantas e raízes:** a colonização induz à resistência do milho contra o herbívoro da raiz *Diabrotica speciosa* *PLoS ONE* 9(11): e113280. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113280>. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0113280> Acesso em: 06 mar 2023.

SCHUMACHER, L.L.; VIÉGAS, J.; TONIN, T.J.; PEREIRA, S.N.; SKONIESKI, F.R.; CARDOSO, G.; HORA, A.L.V.C.; TEIXEIRA, J.V.; TEMP, L.; NEMOTO, B. Efeito da inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* sobre o fracionamento nitrogenado e glicídico em silagens de sorgo. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, e16710212321, 2021 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12321> Disponível em: www.eaic.uem.br/eaic2017/anais/artigos/1987.pdf Acesso em: 04 fev 2023.

SILVA, M.M. D. 2016. **Características agronômicas e nutricionais de genótipos de milho.** Disponível em: https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/BRCRIS_7b48d516fe4f9e9a8994b22daf2e6bbb Acesso em: 10 mar 2023.

SILVA, P. D.; FRATONI, F.; SCUDELETTI, D. Análise biométrica em diferentes fontes de nitrogênio na cultura do milho BRS1501 (*Pennisetum glaucum*). **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, n. 27, p. 114-130, 2015.

SILVA, S.R.; PIRES, J.L.F. Resposta do trigo BRS Guamirim à aplicação de *Azospirillum*, nitrogênio e substâncias promotoras do crescimento. **Revista Ciência**

Agrônômica, v. 48, n. 4, p. 631-638, out-dez, 2017 Centro de Ciências Agrárias -
Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.