

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR

**INOCULAÇÃO DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*
ASSOCIADA A NÍVEIS CRESCENTES DE ADUBAÇÃO
NITROGENADA E O USO DE BIOESTIMULANTE
VEGETAL NA CULTURA DO MILHO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

TÂNIA MARIA MÜLLER

GUARAPUAVA-PR

2013

TÂNIA MARIA MÜLLER

**INOCULAÇÃO DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* ASSOCIADA A NÍVEIS
CRESCENTES DE ADUBAÇÃO NITROGENADA E USO DE BIOESTIMULANTE
VEGETAL NA CULTURA DO MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. João Domingos Rodrigues

Orientador

GUARAPUAVA - PR

2013

Catálogo na Publicação
Biblioteca Central da Unicentro, Campus Cedeteg

M958i Müller, Tânia Maria
Inoculação de *Azospirillum brasilense* associada a níveis crescentes de adubação nitrogenada e o uso de bioestimulante vegetal na cultura do milho / Tânia Maria Müller. -- Guarapuava, 2013
xii, 97 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, 2013

Orientador: João Domingos Rodrigues
Banca examinadora: Itacir Eloi Sandini, Laércio Ricardo Sartor, Luciano Farinha Watzlawick

Bibliografia

1. Agronomia. 2. Produção vegetal. 3. Bactérias diazotróficas. 4. Fixação biológica de nitrogênio. 5. Hormônios vegetais. 6. *Zea mays* L.. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

CDD 633.15

Tânia Maria Müller

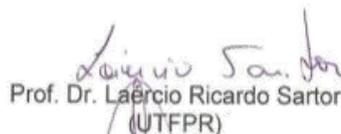
**"INOCULAÇÃO COM AZOSPIRILLUM BRASILENSE ASSOCIADA A NÍVEIS
CRESCENTES DE ADUBAÇÃO NITROGENADA COM USO DE BIOESTIMULANTE
VEGETAL NA CULTURA DO MILHO"**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 1º de agosto de 2013.


Prof. Dr. João Domingos Rodrigues
(UNESP)


Prof. Dr. Itacir Eloi Sandini
(UNICENTRO)


Prof. Dr. Laércio Ricardo Sartor
(UTFPR)


Prof. Dr. Luciano Parinha Watzlawick
(UNICENTRO)

GUARAPUAVA-PR

2013

Aos meus pais Leo e Alúcia Müller.

Dedico e ofereço!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, Leo, Alúcia, Sírio, Keli, João Gabriel e Arthur, por terem sido o contínuo apoio em todo este período, por terem me oferecido amor e compreensão nos momentos difíceis, serei eternamente grata. Agradeço em especial ao meu pai Leo, por nunca ter medido esforços para que eu tivesse a oportunidade de começar e concluir mais esta etapa de minha vida. Agradeço, de forma muito carinhosa, a atuação de minha mãe Alúcia em sua crença absoluta na minha capacidade de realização, foram elementos importantes para a concretização desta dissertação.

Ao meu namorado Cleiton, que se mostrou um verdadeiro companheiro nesta trajetória, soube compreender e auxiliar nos momentos difíceis. Agradeço-lhe, afetuosamente, por tudo. Também a família Trebien que contribuiu com seu carinho, gostaria de expressar minha profunda gratidão.

Aos queridos colegas do Laboratório de “Plantas de Lavouras”: Alex, Fabiano, Jackson, João e Valmiler pela amizade em todos os momentos e pelas risadas proporcionadas nas horas mais cansativas de trabalho. Às colegas de Laboratório Édina e Mayara pelo companheirismo e amizade. Às colegas de mestrado Simone e Tatyanna pelas longas conversas, pelas caronas, auxílio nos trabalhos e pela disposição. Aos amigos Keli, Priscila e Rodolfo. À Jaqueline uma excelente profissional, competente e dedicada que auxiliou em todos os momentos. Agradeço de coração pela contribuição de cada um de vocês.

Meu agradecimento, no âmbito acadêmico, deve-se a excelência profissional do Professor Dr. Itacir que conferiu prestígio e valor ao meu trabalho de mestrado, pela compreensão, confiança e todos os ensinamentos transmitidos. Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. João Domingos Rodrigues e a minha co-orientadora Prof^a Dr^a Elizabeth Orika Ono pela consideração de ter aceito minha orientação, na esperança de retribuir, com a seriedade de meu trabalho, a confiança, à mim, depositada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Ao Departamento de Agronomia da UNICENTRO (Universidade Estadual do Centro-oeste), pelos auxílios e incentivos oferecidos no decorrer deste trabalho. Bem como a todos os professores e funcionários.

SUMÁRIO

Lista de Símbolos e Abreviaturas	i
Lista de Tabelas	ii
Lista de Figuras	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos	3
3. REFERENCIAL TEÓRICO	4
3.1 Características para o desempenho da cultura do milho	4
3.2 Influências do N no desenvolvimento e rendimento de grãos da cultura do milho	6
3.3 Benefícios da inoculação de milho com <i>Azospirillum brasilense</i>	9
3.4 Biestimulante na cultura do milho	12
4. CONSIDERAÇÕES	16
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
6. CAPÍTULO 1 - BIOESTIMULANTE VEGETAL ASSOCIADO A NÍVEIS DE ADUBAÇÃO NITROGENADA, NA CULTURA DO MILHO	22
RESUMO.....	22
6.1 INTRODUÇÃO	23
6.2 MATERIAL E MÉTODOS	25
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
6.4 CONCLUSÃO	40
6.5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	40
7. CAPÍTULO 2 – DOSES DE NITROGÊNIO ASSOCIADOS AO EFEITO DA INOCULAÇÃO DE <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> NA CULTURA DO MILHO.....	46
RESUMO.....	46
7.1 INTRODUÇÃO	47
7.2 MATERIAL E MÉTODOS	49
7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
7.4 CONCLUSÃO	63
7.5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	63
8. CAPÍTULO - 3. <i>AZOSPIRILUM BRASILENSE</i> INOCULADO NO TRATAMENTO DE SEMENTES E NO SULCO DE SEMEADURA EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO FOLIAR DE BIOESTIMULANTE NA CULTURA DO MILHO	68
RESUMO.....	68
ABSTRACT.....	68
8.1 INTRODUÇÃO	69
8.2 MATERIAL E MÉTODOS	71
8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
8.4 CONCLUSÃO	79
8.5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	79
ANEXO I.....	82
ANEXO II.....	83
ANEXO III	84
ANEXO IV	85

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

<i>FBN</i>	Fixação biológica de Nitrogênio
<i>V4</i>	Estádio vegetativo 4
<i>V2</i>	Estádio vegetativo 2
<i>A. brasilense</i>	<i>Azospirillum brasilense</i>
<i>t ha⁻¹</i>	Toneladas por hectare
<i>MG</i>	Miligramas
<i>kg</i>	Quilograma
°C	Graus Celsius
<i>kg ha⁻¹</i>	Quilogramas por hectare
<i>N</i>	Nitrogênio
<i>DNA</i>	Ácido desoxirribonucleico
<i>RNA</i>	Ácido ribonucleico
<i>AIA</i>	Ácido indolilacético
<i>BPCPs</i>	Bactérias promotoras de crescimento de plantas
<i>mg L⁻¹</i>	Miligramas por litro
<i>L</i>	Litro
<i>mL ha⁻¹</i>	Mililitro por hectare
®	Marca registrada
<i>GA₁</i>	Giberelina
<i>Cfb</i>	Subtropical mesotérmico úmido
<i>P</i>	Fósforo
<i>K</i>	Potássio
<i>G</i>	Grama
<i>Mm</i>	Milímetro
<i>i.a.</i>	Ingrediente ativo
<i>R1</i>	Estádio reprodutivo 1
<i>R2</i>	Estádio reprodutivo 2
<i>R4</i>	Estádio reprodutivo 4
<i>IAF</i>	Índice de área foliar

DAE	Dias após a emergência
Nm	Nanômetro
CV	Coefficiente de variação
Cl	Clorofila
MMG	Massa de mil grãos
TS	Tratamento de sementes
cm	Centímetro

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Teores de clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> e <i>total</i> (%), rendimento de grãos (kg ha ⁻¹), massa de mil grãos (MMG (g)), população de plantas, espigas por planta, grãos ardidos, altura de planta (cm), altura de inserção de espiga (cm), fileiras por espiga, grãos por fileira, grãos por espiga, índice de área foliar (cm ²), folhas senescentes no florescimento e total de folhas no florescimento em função da inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> e aplicação de bioestimulante na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.	28
Tabela 2. Médias do teor de clorofila <i>b</i> , rendimento de grãos (kg ha ⁻¹) e massa de mil grãos (g), nos tratamentos com aplicação foliar de bioestimulante no estágio V4 da cultura do milho. Guarapuava, PR, 2013.....	30
Tabela 3. Correlação linear entre as variáveis analisadas. 0 - 0,75 indica fraca correlação linear; 0,75-0,90 indica média correlação linear e 0,90-1,00 indica forte correlação linear (GOMES 1990). Guarapuava, PR, 2013.	39
Tabela 4. Quadrado médio para as variáveis analisadas em plantas de milho com ou sem a inoculação de <i>A. brasilense</i> associado a diferentes doses de N. Teores de clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> e <i>total</i> (%), rendimento de grãos (kg ha ⁻¹), massa de mil grãos (MMG (g)), população de plantas, espigas por planta, grãos ardidos, altura de planta (cm), altura de inserção de espiga (cm), fileiras por espiga, grãos por fileira, grãos por espiga, índice de área foliar (cm ²), folhas senescentes no florescimento e total de folhas no florescimento em função da inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> e aplicação de bioestimulante na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.	51
Tabela 5. Médias do rendimento de grãos (kg ha ⁻¹), altura de planta (cm), altura de inserção de espiga (cm) e índice de área foliar (IAF, cm ²), nos tratamentos com <i>A. brasilense</i> na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	54
Tabela 6. Correlação linear entre as variáveis analisadas. 0 - 0,75 indica fraca correlação linear; 0,75-0,90 indica média correlação linear e 0,90-1,00: indica forte correlação linear (GOMES, 1990). Guarapuava, PR, 2013.	62
Tabela 7. Teores de clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> e <i>total</i> (%), rendimento de grãos (kg ha ⁻¹), massa de mil grãos (MMG (g)), população de plantas, espigas por planta, grãos ardidos, altura de planta (cm), altura de inserção de espiga (cm), fileiras por espiga, grãos por fileira, grãos por espiga, índice de área foliar (cm ²), folhas senescentes no florescimento e total de folhas no florescimento em função da inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> e aplicação de bioestimulante na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.	73
Tabela 8. Teor de clorofila <i>b</i> (método SPAD - índice adimensional) em folhas de plantas de milho em função da inoculação de <i>A. brasilense</i> e aplicação de bioestimulante. Guarapuava, PR, 2013.	74
Tabela 9. Rendimento de grãos (kg ha ⁻¹), massa de mil grãos (MMG) (g), altura de planta (cm), altura de inserção de espiga (cm) e IAF (m ²) em função da inoculação de <i>A. brasilense</i> e aplicação de bioestimulante na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	75
Tabela 10. Rendimento de grãos (kg ha ⁻¹) e massa de mil grãos (g) em função da inoculação de <i>A. brasilense</i> e aplicação de bioestimulante na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013. .	76
Tabela 11. Médias obtidas no rendimento de grãos (kg ha ⁻¹) em função da inoculação de <i>A. brasilense</i> e aplicação de bioestimulante na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.	77
Tabela 12. Correlação linear entre as variáveis analisadas. 0 - 0,75 indica fraca correlação linear; 0,75-0,90 indica média correlação linear e 0,90-1,00: indica forte correlação linear (GOMES, 1990). Guarapuava, PR, 2013.	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo de controle de taxa de absorção de N durante o rápido crescimento vegetativo (a) e enchimento de grãos (b). Adaptado de IMSANDE E TOURAINE, 1994; BREDEMEIER E MUNSTOCK, 2000.....	8
Figura 2. A fixação biológica de nitrogênio consiste na redução do dinitrogênio atmosférico (N ₂) a amônio (NH ₃ ⁺) pelas bactérias diazotróficas. Adaptado de ALVES, 2007.....	10
Figura 3. Atuação dos hormônios vegetais nos diferentes órgãos e fases da cultura do milho; a) germinação; b) floração; c) reprodução; d) crescimento das folhas; e) senescência foliar; f) crescimento do caule; g) crescimento da raiz.....	13
Figura 4. Teor relativo de clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> e <i>total</i> em função da adubação nitrogenada na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	32
Figura 5. Teor de N foliar em função da adubação nitrogenada na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	32
Figura 6. Índice de área foliar (IAF) em função das doses crescentes de N aplicadas na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	33
Figura 7. Número de folhas senescentes no estágio de florescimento em relação às doses de N aplicadas na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	34
Figura 8. Altura de planta e altura de inserção de espiga de acordo com as doses de N na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	34
Figura 9. Número de grãos por espiga em relação às doses de N na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	35
Figura 10. Número de grãos por fileira em relação às doses de N na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	36
Figura 11. Rendimento de grãos em função das doses crescentes de N na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	38
Figura 12. Índice de área foliar com influência da adubação nitrogenada e inoculação de <i>A. brasilense</i> na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	52
Figura 13. Número de folhas senescentes no florescimento em função da inoculação de <i>A. brasilense</i> e os níveis da adubação nitrogenada na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013..	53
Figura 14. Teores relativos de clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> e <i>total</i> em função da adubação nitrogenada na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	56
Figura 15. Médias do teor de N foliar no do florescimento, em função da aplicação de diferentes doses de N, na cultura do milho. Guarapuava, PR, 2013.....	57
Figura 16. Altura de planta (cm) e altura de inserção de espiga (cm) obtida pela aplicação de diferentes níveis de nitrogênio na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	57
Figura 17. Grão por fileira de acordo com as doses de N na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	58
Figura 18. Grão por espiga em relação à adubação nitrogenada na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	59
Figura 19. Rendimento de grãos em relação a adubação nitrogenada na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.....	60

RESUMO

Tânia Maria Müller. Inoculação de *Azospirillum brasilense* Associada a Níveis Crescentes de Adubação Nitrogenada e Uso de Bioestimulante Vegetal na Cultura do Milho

Com o objetivo avaliar a eficiência da inoculação com *Azospirillum brasilense*, aplicado no sulco de semeadura e no tratamento de sementes, associada a cinco níveis de adubação nitrogenada com e sem o emprego de bioestimulante vegetal, aplicado via foliar na cultura do milho, foram realizados três experimentos na Fazenda Galo-Vermelho, no município de Guarapuava, PR, no ano agrícola de 2011. O experimento I foi composto por 6 tratamentos (*A. brasilense* x bioestimulante) e 20 repetições; o experimento II com 15 tratamentos (*A. brasilense* x adubação nitrogenada) e 8 repetições e o experimento III com 10 tratamentos (bioestimulante x adubação nitrogenada) e 12 repetições, utilizando-se o delineamento experimental blocos ao acaso. Os tratamentos com inoculação de *A. brasilense* foram realizados no tratamento de sementes (100 ml ha⁻¹), sulco de semeadura (300 ml ha⁻¹) e controle; foram avaliadas cinco doses de nitrogênio (N) (0; 75; 150; 225 e 300 kg ha⁻¹ de N) com ou sem aplicação do bioestimulante vegetal, via foliar (250 ml ha⁻¹) no estágio V4. Avaliaram-se do milho o teor de clorofila, índice de área foliar, folhas senescentes no florescimento, total de folhas, teor de N foliar, altura de planta, altura de inserção da espiga, população de plantas, índice de espigamento, rendimento de grãos, massa de mil grãos, grão ardido, número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira e número de grãos por espiga. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade e para as doses de N utilizou-se regressão. Com os resultados obtidos, observou-se que a inoculação com *A. brasilense* promoveu incremento na altura de planta, inserção de espiga e rendimento de grãos. O bioestimulante limitou o rendimento e massa de mil grãos. O N influenciou, positivamente, as variáveis analisadas de acordo com os níveis de N aplicados, obtendo-se a máxima eficiência técnica na dose de 210 kg ha⁻¹ de N. Concluindo-se que as doses de N e a inoculação com *A. brasilense* promoveram incremento, significativo, no rendimento de grãos, contudo a aplicação de bioestimulante vegetal via foliar no estágio V4, comprometeu o rendimento devido à sua aplicação.

Palavras-Chave: bactérias diazotróficas, fixação biológica de nitrogênio, hormônios vegetais, *Zea mays* L..

ABSTRACT

Tânia Maria Müller. Inoculation of *Azospirillum brasilense* Associated with Increasing Doses of Nitrogen Fertilization and Use of Biostimulant in Corn Crop

Three experiments were carried out in Guarapuava, Paraná, Brazil in 2011 with objective of evaluating the effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* and different doses of nitrogen fertilization and use of biostimulant in corn crop. The experimental design was complete randomized blocks. The first experiment had six treatments (*A. brasilense* x biostimulant) with twenty replications; the second experiment had fifteen treatments (*A. brasilense* x nitrogen fertilization) with eight replications; and, the third experiment had ten treatments (biostimulant x nitrogen fertilization) with twelve replications. The treatments with inoculation were performed in seed treatment, seeding furrow and control (no inoculation). Five doses of nitrogen (N) were evaluated (0, 75, 150, 225 and 300 kg ha⁻¹ of N ha⁻¹) and the presence or absence of biostimulant application at V4 growth stage. Chlorophyll content, leaf area index, senescent leaves at flowering, total number of leaves, foliar nitrogen content, plant height, leaf insertion height, plant population, leaf index, yield, thousand grain mass, damaged kernels, number of rows per leaf, number of kernels per row and number of kernels per leaf were the characteristics evaluated. The inoculation of *A. brasilense* in seed treatment and seeding furrow provided increase in the agronomic characteristics evaluated. However, the biostimulant limited the crop yield. There was quadratic response in corn yield with increase of nitrogen doses and the maximum yield was obtained with 210 kg ha⁻¹ of N. Therefore, it was concluded that nitrogen doses and inoculation of *A. brasilense* provided increase in yield. Since the biostimulant application at V4 growing stage jeopardized the corn yield in this study, it would not be a recommended technology; nevertheless, it is recommendable to perform more experiments on this technology.

Keywords: *Zea mays* L., biological nitrogen fixation, diazotrophic organisms, plant hormones.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Com o aumento da demanda mundial e sua valorização, a cultura do milho passou por importantes avanços nos diversos campos da ciência agrônoma, com destaque para os estudos relacionados à ecologia, fisiologia e nutrição proporcionando melhor compreensão de suas relações com o ambiente de produção. Estas interações mostram-se fundamentais para a previsão do comportamento da planta e da manifestação de seu potencial produtivo (FANCELLI, 2010).

Neste contexto, dentre os nutrientes exigidos pela planta, o N é o que mais onera o custo da produção. A cultura do milho exporta grandes quantidades de nitrogênio do solo, por isso, requer maior uso de adubação nitrogenada, sendo recomendado o seu parcelamento, para maior eficiência de utilização. A fixação biológica de nitrogênio (FBN) aparece como alternativa de acentuada importância no suprimento de nitrogênio necessário à cultura. Assim, as pesquisas sobre a associação de bactérias diazotróficas com gramíneas têm avançado para o conhecimento das interações entre o genótipo da planta e a seletividade da população microbiana do sistema solo/planta.

As bactérias do gênero *Azospirillum* são comumente encontradas habitando raízes de gramíneas. O *Azospirillum* spp. colabora para a nutrição da planta, seja através do processo de FBN ou da produção de hormônios vegetais, que atuam no aumento do sistema radicular das plantas. A inoculação com *Azospirillum* modifica a morfologia do sistema radicular pela produção de substâncias promotoras de crescimento, aumentando não apenas o número de radicelas, mas também o diâmetro das raízes laterais e adventícias, ampliando assim, o volume de solo explorado e promovendo, conseqüentemente, ganhos em rendimento OKON & VANDERLEYDEN (1997).

Aliado a isso, avaliações da possibilidade de emprego de bioestimulantes como técnica agrônoma têm sido estudadas para otimizar as produções em diversas culturas. Os bioestimulantes são compostos que provocam alterações nos processos fisiológicos e estruturais com a finalidade de auxiliar no incremento do rendimento de grãos e melhorar a qualidade sob as mais diversas condições ambientais. Os bioestimulantes podem ser aplicados via tratamento de sementes, aplicação foliar ou em frutos.

Deste modo, o presente estudo propõe avaliar a eficiência da inoculação de

Azospirillum brasilense associada a níveis de adubação nitrogenada e o emprego de bioestimulante vegetal, avaliando-se a eficiência destas tecnologias, componentes de rendimento e, conseqüentemente, mensurar o incremento de rendimento de grãos da cultura do milho, na região centro-sul do Paraná.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência da inoculação com *Azospirillum brasilense*, aplicado no sulco de semeadura e no tratamento de sementes, associada a cinco níveis de adubação nitrogenada com e sem o emprego de bioestimulante vegetal, aplicado via foliar na cultura do milho, na região centro-sul do Paraná.

2.2 Objetivos específicos

- 1) Avaliar a eficiência das tecnologias de inoculação de *Azospirillum brasilense* e da aplicação de bioestimulante vegetal, bem como, avaliar a associação entre eles, a fim de maximizar os rendimentos da cultura do milho;
- 2) Analisar os componentes de rendimento em função da aplicação das cinco doses de N;
- 3) Mensurar o rendimento de grãos com a associação ou não de *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada;
- 4) Avaliar a dose de N mais eficiente para o rendimento de milho e
- 5) Aferir a eficiência da associação do bioestimulante e das doses de N sobre o rendimento de grãos.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Características para o desempenho da cultura do milho

Com o aumento gradativo do nível tecnológico da produção de milho deve-se entender a importância e as fases críticas desta cultura, podendo-se planejar a melhor época de semeadura para os diferentes tipos de híbridos, assim como suas necessidades, maximizando o potencial produtivo (FANCELLI e DOURADO NETO, 2004).

O conhecimento da influência de fatores ambientais que determinam o desempenho da planta poderá contribuir de forma decisiva para a minimização de estresses (FANCELLI, 2000). Para a cultura do milho, as temperaturas situadas entre 25° e 30°C oferecem as melhores condições para o início do processo de germinação das sementes e emergência das plântulas. No período de florescimento e maturação, temperaturas médias diárias superiores a 26°C podem promover a aceleração dessas fases, da mesma forma que temperaturas inferiores a 15,5°C podem, prontamente, retardá-las (BERGER, 1962 citado por FANCELLI, 2000). Resultados experimentais relatam que a cada grau de temperatura média diária superior a 21,1°C, nos primeiros 50-60 dias após a semeadura, antecipa o florescimento em dois a três dias (FANCELLI, 2000).

A água é um dos elementos mais importantes devido à necessidade do suprimento hídrico para o desenvolvimento da cultura decorrente das funções que ela desempenha na fisiologia da planta, sendo, praticamente, que todos os processos metabólicos são influenciados por ela. Assim, deficiências hídricas iniciais podem afetar o processo germinativo comprometendo o estabelecimento da cultura, deficiências posteriores podem paralisar o crescimento e retardar o desenvolvimento reprodutivo das plantas. A exigência mínima da cultura é de 350-550 mm de precipitação para produzir satisfatoriamente. O estresse hídrico pode ocasionar a redução no vigor vegetativo e na altura da planta, bem como, na produção e fertilidade do pólen, além de alterar o sincronismo de florescimento das inflorescências masculinas e femininas e, ainda, se ocorrer entre os estádios de 4 e 12 folhas pode reduzir sensivelmente o tamanho da espiga e, conseqüentemente, o rendimento de grãos de grãos (FANCELLI e DOURADO NETO, 2004).

Para o eficiente manejo de irrigação, de nutrientes e de outras práticas culturais é de fundamental importância o conhecimento das diferentes fases de crescimento do milho com suas diferentes demandas. Portanto, é importante enfatizar os diversos estádios de crescimento da planta de milho, desde a sua emergência até a maturidade fisiológica (MAGALHÃES et al., 2002).

De forma geral, o ciclo da cultura do milho compreende as seguintes etapas de desenvolvimento:

- germinação e emergência: período compreendido desde a semeadura até o efetivo aparecimento da plântula, o qual em função da temperatura e umidade pode apresentar 12 dias de duração;

- crescimento vegetativo: período compreendido entre a emissão da segunda folha e o início do florescimento; esta etapa possui extensão variável;

- florescimento: período compreendido entre o início da polinização e o início da frutificação, cuja duração raramente ultrapassa 10 dias;

- frutificação: período compreendido desde a fecundação até o enchimento completo de grãos, sendo sua duração estimada entre 40 e 60 dias e

- maturidade: período compreendido entre o final da frutificação e o aparecimento da “camada negra”, sendo este relativamente curto e indicativo do final do ciclo de vida da planta (FANCELLI e DOURADO NETO, 2004).

Para o milho, o potencial de produção é definido precocemente por ocasião da emissão da 4ª folha, podendo se estender até a 6ª folha, principalmente, em função da natureza dos genótipos utilizados. A referida etapa é denominada de diferenciação floral, a qual também coincide com o término da fase de diferenciação das folhas. Portanto, nessa etapa já estará definida a área foliar potencial que a planta deverá apresentar. Da mesma forma, a confirmação do número de fileiras (ovários) da espiga ocorrerá entre o período correspondente à emissão da 7ª e 9ª folha completamente expandida, devido às transformações ocorridas na gema axilar que dará origem à espiga (FANCELLI, 2000).

A correta adubação, associada à correta época de semeadura e escolha de híbrido, são fatores importantes de produção para definir se a demanda da planta pode ser alcançada o mais próximo possível de seu potencial genético, com a finalidade de elevar ao máximo a rendimento de grãos (FANCELLI e DOURADO NETO, 2004).

A rendimento de grãos de milho é determinada pela densidade de plantas, prolificidade ou número de espigas por planta, número médio de fileiras de grãos por espiga, número médio de grãos por fileira e massa média de grão. A densidade de plantas deve ser estabelecida de acordo com as características morfofisiológicas dos genótipos, época de semeadura e nível de manejo adotado na lavoura. Os componentes de rendimento de grãos de milho são definidos durante o desenvolvimento da planta (NEL e SMITH, 1978 *apud* BALBINOT et al., 2005).

Dentre os nutrientes mais requeridos pela cultura está o N, que é importante no estágio inicial de desenvolvimento da planta (segunda semana após a emergência), quando esta está com quatro folhas totalmente expandidas. É nesta fase que o sistema radicular em desenvolvimento, já mostra considerável porcentagem de pelos absorventes e ramificações diferenciadas e a adição de N estimula sua proliferação com, conseqüente, desenvolvimento da parte aérea. Também neste estágio tem início o processo de diferenciação floral, o qual origina os primórdios da panícula e espiga, bem como, define o potencial de produção. Isso implica na necessidade da disponibilidade de, neste estágio, pelo menos, 30 kg ha⁻¹ de N de forma a não limitar esse evento fisiológico (IOWA STATE UNIVERSITY, 1993; citado por FANCELLI, 1997).

Dessa forma, exigências de nitrogênio pelo milho variam consideravelmente com os diferentes estádios de desenvolvimento da planta, sendo mínimas nos estádios iniciais, aumentando com a elevação da taxa de crescimento e alcançando o pico durante o florescimento até o início de formação de grãos (ARNON, 1975).

3.2 Influências do N no desenvolvimento e rendimento de grãos da cultura do milho

O N possui papel fundamental no metabolismo vegetal por participar da biossíntese de proteínas e clorofilas (ANDRADE et al., 2003) por estar presente nos aminoácidos, proteínas, DNA, RNA e outras estruturas celulares. O estudo da sua dinâmica em ecossistemas agrícolas tem despertado crescente interesse devido ao aumento na demanda por alimentos. Por ser um elemento muito dinâmico no solo e sujeito a grandes perdas, principalmente na forma gasosa, torna-se essencial o seu manejo eficiente (YAMADA e ABDALLA, 2000).

O milho absorve tanto a forma nítrica (NO_3) como a amoniacal (NH_4), embora a idade da planta tenha influência na escolha da forma nitrogenada. O íon amônio é utilizado, preferencialmente, nos primeiros estádios e o íon nitrato nos estádios finais (WARNCKE e BARBER, 1973). No entanto, existe muita discordância na literatura quanto à forma preferencial de absorção de N pelo milho (MAGALHÃES, 1996).

O mecanismo segundo o qual o nível de aminoácidos no floema da raiz regula a absorção e a assimilação de nitrogênio pela planta foi sugerido por IMSANDE & TOURAINÉ (1994). Que é embasado na teoria de que, durante o rápido crescimento vegetativo, são altas as taxas de redução de nitrato e síntese de aminoácidos nas folhas. Ali mesmo, é utilizada a maioria dos aminoácidos para a síntese de clorofila, rubisco e outras proteínas e, com isso, é baixo o nível de aminoácidos no floema que entra nas raízes. Por outro lado, durante a fase reprodutiva, diminui a taxa de redução de nitrato; em paralelo, em função da remobilização do N foliar para o desenvolvimento das inflorescências, aumenta a exportação de aminoácidos das folhas, enriquecendo, com esses compostos, o floema. O mecanismo proposto sugere que esses aminoácidos provocam uma redução na taxa de absorção de NO_3^- (IMSANDE & TOURAINÉ, 1994).

Durante o crescimento vegetativo (Figura 1), o N é rapidamente absorvido pelas raízes e transportado para as folhas. Nas folhas, a redução do nitrato produz aminoácidos (AA), os quais são incorporados à proteína foliar. Durante o enchimento de grãos, ocorre a remobilização de N foliar e alta exportação de aminoácidos. Conseqüentemente, o floema fica enriquecido com AA, o que inibe a absorção e a redução de nitrato nas raízes (IMSANDE & TOURAINÉ, 1994).

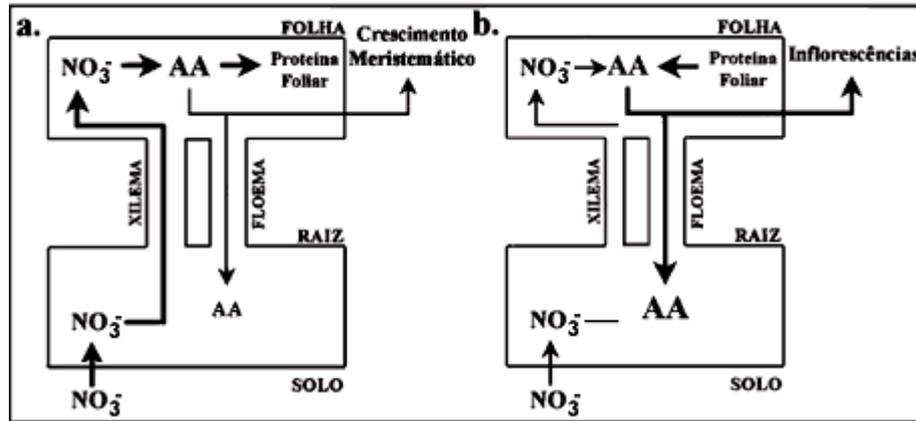


Figura 1. Modelo de controle de taxa de absorção de N durante o rápido crescimento vegetativo (a) e enchimento de grãos (b). Adaptado de IMSANDE E TOURAINE, 1994; BREDEMEIER E MUNSTOCK, 2000.

Estudos revelam respostas diferenciadas quanto à época de aplicação e a fonte de N utilizada (LARA CABEZAS et al., 2005). Alguns resultados demonstram que a absorção de nitrogênio pelo milho é mais intensa no período entre 40 e 60 dias após a germinação, embora a planta absorva o elemento em todo o ciclo (FRANÇA et al., 1994;). No estágio de quatro a seis folhas, ocorrem as diferenciações das várias partes da planta e a definição de sua produção potencial. Os componentes da produção, como número de fileiras de grãos por espiga e tamanho da espiga é definida nos estádios de quatro a seis folhas, necessitando nessa época de um suprimento adequado de N. Assim, a ocorrência de deficiência de N nesta fase reduz o número de óvulos nos primórdios da espiga (SCHRÖDER et al., 2000).

Em condições climáticas favoráveis à cultura, a quantidade de N requerida para otimizar a rendimento de grãos de milho pode alcançar valores superiores a 150 kg ha^{-1} de N, o que justifica a necessidade de usar fertilizantes nitrogenados para fornecer N para a cultura e repor o nutriente no solo (AMADO et al., 2002). Cantarella (1993) relata que, embora a absorção do N pelo milho seja mais intensa dos 40 aos 60 dias após a emergência, a planta ainda absorve cerca de 50% do N de que necessita, após o início do florescimento afirmando ainda que é provável que haja vantagens em uma aplicação tardia de parte do N nos casos de uso de adubações pesadas, em solos muito arenosos ou áreas irrigadas.

O parcelamento indiscriminado de N, sem levar em consideração fatores como rendimento de grãos esperada, demanda da cultura, textura do solo e outros pode comprometer os efeitos da adubação (FRANÇA et al., 1994). A recomendação da adubação nitrogenada na semeadura é de aplicação de, no mínimo, 25 a 45 kg ha^{-1} de N para a adubação de cobertura recomenda-se fazer quantificação da adubação nitrogenada em função do

rendimento esperado, da variedade ou híbrido utilizado, do solo, do clima, da cultura, da adubação anteriormente utilizada e da tecnologia (FANCELLI e DOURADO NETO, 2004).

Com o objetivo de reduzir perdas de N em sistemas de produção e, conseqüentemente, ampliar a eficiência de seu aproveitamento pelas plantas, estratégias tem sido sugeridas como: adequar a quantidade de N às necessidades da planta e às etapas de maior demanda; evitar a aplicação de fertilizantes nitrogenados a lanço; proceder à incorporação de N ao solo (3-5 cm de profundidade); utilizar fertilizantes nitrogenados de liberação lenta ou controlada e que tenham substâncias inibidoras de processos que favorecem perdas (FANCELLI, 2010).

Apesar do N ser o nutriente mais abundante dos elementos do ar atmosférico os animais e as plantas não são capazes de metabolizá-lo na forma gasosa e retirá-lo diretamente do ar. A função de transformar o N existente, no ar atmosférico, em formas assimiláveis para as plantas e animais é realizada por bactérias fixadoras de N e por algumas algas azuis (cianobactérias) (EMBRAPA, 2005).

A FBN em culturas é de grande interesse tendo em vista os benefícios econômicos e ambientais. Sabe-se, por exemplo, que o N representa cerca de 40% do custo total de produção da cultura do milho (BARROS NETO, 2008). Devido a este fato, a fixação em gramíneas tem merecido atenção especial nos últimos anos e muitos estudos têm sido desenvolvidos visando melhor compreensão dos fatores que influenciam a relação planta-bactéria (JASMIN, 1988).

O *Azospirillum* spp. está entre as mais importantes bactérias envolvidas na fixação de N₂ em gramíneas (CACERES, 1982). O efeito da bactéria *Azospirillum* spp. no desenvolvimento do milho e em outras gramíneas tem sido pesquisado, não somente quanto ao rendimento das culturas, mas, também, com relação às causas fisiológicas que, possivelmente, aumentam esse rendimento (BÁRBARO et al., 2008).

3.3 Benefícios da inoculação de milho com *Azospirillum brasilense*

As bactérias do gênero *Azospirillum* são de vida livre, rizobactérias capazes de promover o crescimento das plantas e aumentar as colheitas em muitas culturas de importância agrônômica (DOBBELAERE et al., 2003). O *A. brasilense* é uma bactéria fixadora de N, encontrada na rizosfera de várias espécies de gramíneas e atua na síntese de

hormônios vegetais como o ácido indolilacético e ácido indoliláctico (FALLIK et al., 1988).

Este micro-organismo está presente em todo tipo de solo (SILVA et al., 2004) sendo que seu crescimento, ideal, varia numa faixa de temperatura entre 28 e 41°C (ECKERT et al., 2001). Dependendo da espécie de gramínea, a qual a bactéria esteja associada, o *Azospirillum* apresenta maior ou menor atividade de fixação de N₂ (SIQUEIRA e FRANCO, 1988). A fixação de N pela bactéria ocorre em ambiente natural e temperatura ambiente, que com a presença da enzima nitrogenase, catalisam a reação e fazem com que o processo de fixação ocorra a níveis bem menores de energia (Figura 2). A bactéria consome energia da planta (açúcares), mas esta é compensada pelo aporte de N fornecido ao sistema (ALVES, 2007).

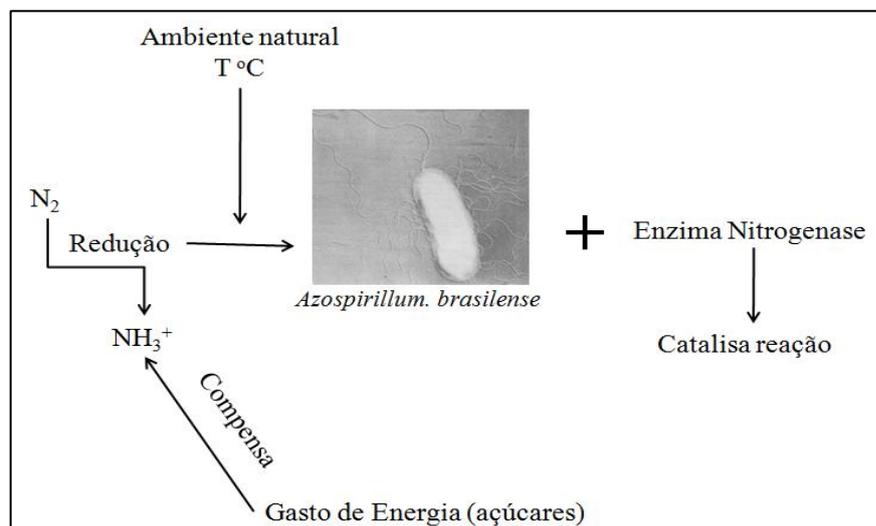


Figura 2. A fixação biológica de nitrogênio consiste na redução do dinitrogênio atmosférico (N₂) a amônio (NH₃⁺) pelas bactérias diazotróficas. Adaptado de ALVES, 2007.

Experimentos comprovam a eficiência da inoculação com *A. brasilense*, como observado no trabalho conduzido por Barros Neto (2008) no qual a inoculação proporcionou aumento significativo na rendimento de grãos de milho de 9.021 kg ha⁻¹ para 9.814 kg ha⁻¹, ou seja, aumento médio de 9%. Resultados similares de aumento de produção com o uso de *Azospirillum* também são relatados por Didonet (1996) e Cavallet (2000), com aumento médio de 17%.

A associação *Azospirillum*-planta leva ao desenvolvimento aprimorado, e é atribuído, principalmente, à melhoria no crescimento das raízes, aumento na taxa de absorção de água e

absorção de minerais e, em menor escala, à fixação biológica de N₂ (OKON e ITZIGSOHN, 1995). Em estudos, com plântulas de milho, foi observada promoção de raízes laterais e inibição do alongamento das raízes quando aplicado auxina exógena e inoculação de *A. brasilense* apresentando massa seca média de raízes de 0,0379 g e (UAP 154) 0,0658 g, respectivamente (MARTÍNEZ-MORALES et al., 2003).

A aplicação de *A. brasilense* em plantas de milho aumenta a atividade específica de uma série de enzimas metabólicas. Segundo estudos realizados por Fallik et al. (1988) este aumento metabólico das enzimas foi significativo entre as segunda e terceira semanas após o plantio, nos extratos de raízes inoculadas. A atividade da fenilalanina amônia-liase e glicose-6-fosfato desidrogenase (enzimas com taxa de atividade alta), não foi afetada, sugerindo que *Azospirillum* não se comporta como um patógeno na planta.

Dados mundiais acumulados indicam que o *Azospirillum* é capaz de promover o rendimento de culturas agronomicamente importantes, em diferentes solos e regiões climáticas. Hormônios vegetais sintetizados por *Azospirillum* influenciam a planta na taxa de respiração, no metabolismo e na proliferação da raiz e, portanto, melhoram a absorção de minerais e de água em plantas inoculadas (OKON e ITZIGSOHN, 1995).

A inoculação da bactéria *Azospirillum* spp. tem sido realizada nas sementes de algumas gramíneas, e as pesquisas têm revelado que há aumento de rendimento de grãos destas culturas com a utilização de tal tecnologia. Muñoz-Garcia et al. (1991) com a inoculação de sementes de milho com *A. brasilense* (cepa UAP 7), obtiveram aumento de matéria seca de raízes na ordem de 54 a 86% e de 23 a 64% na massa seca da parte aérea (BRACCINI et al., 2010)

A bactéria *Azospirillum* produz substâncias promotoras de crescimento como o ácido indolilacético (IAA), giberelinas e citocininas, atuando na morfologia e fisiologia de raízes das plantas, promovendo aumento da massa radicular e numa maior superfície específica, auxiliando na melhor exploração do solo e na captação de água e nutrientes (PERIN et al., 2003).

As bactérias associadas às plantas não leguminosas podem ser classificadas como bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), pelo fato de serem capazes de promover benefícios às plantas, não somente pela FBN, mas na estimulação do desenvolvimento de raízes nos primeiros estádios de crescimento da planta, que pode ser responsável pelo impacto positivo da inoculação (SALA et al., 2007).

A proporção entre auxinas e citocininas na planta determina o maior crescimento da raiz ou parte aérea. Quando se tem elevada concentração de auxinas há indução ao crescimento da raiz, ao passo que, a maior concentração de citocininas favorece o crescimento da parte aérea (SPAEPEN et al., 2009). O estímulo de biossíntese de auxinas nas raízes das plantas é de extrema relevância, pois este hormônio vegetal estimula a divisão e o crescimento celular, a área superficial de raízes e, conseqüentemente, a capacidade de absorção de água e nutrientes. Também aumenta a tolerância das plantas inoculadas ao déficit hídrico (MARTÍNEZ-MORALES et al., 2003).

3.4 Biestimulante na cultura do milho

O primeiro grupo hormonal descoberto foi o das auxinas, que são responsáveis pelo crescimento das plantas (Figura 3), influenciando diretamente nos mecanismos de expansão celular (TAIZ e ZEIGER, 2012) e na abertura das folhas (RODRIGUES, 2008). A sobrevivência da planta depende consecutivamente da presença de auxinas e citocininas.

Quanto ao segundo grupo de reguladores vegetais (as citocininas), estas foram descobertas em estudos relacionados ao processo de divisão celular. Além dessa atividade fundamental no desenvolvimento do vegetal, outras atividades estão ligadas a esse hormônio vegetal (Figura 3), como a senescência foliar, mobilização de nutrientes, dominância apical, formação e a atividade dos meristemas apicais, o desenvolvimento floral, germinação de sementes, quebra de dormência de gemas, fotossíntese, entre outras (TAIZ e ZEIGER, 2012). As citocininas contribuem ainda, para a manutenção da síntese de proteínas e enzimas, em níveis elevados retardam a degradação de proteínas e da clorofila, estimulam a divisão celular e o crescimento radicular, além de preservar o vigor das células (FANCELLI, 2010). Recentemente foram descobertas outras funções para as citocininas como produto intermediário em processos de desenvolvimento das plantas, regulados pela luz, incluindo a diferenciação dos cloroplastos, o desenvolvimento do metabolismo autotrófico e a expansão de folhas e cotilédones (TAIZ e ZEIGER, 2012). Atua, também, como principal hormônio na fotossíntese agindo na diferenciação dos cloroplastos, na síntese da enzima ribulose 1,5-difosfato carboxilase (Rubisco) (responsável pela transformação do carbono inorgânico em orgânico), na síntese de clorofila, na expansão foliar e na inibição da degradação da clorofila (inibindo a senescência) (RODRIGUES, 2008).

No terceiro grupo estão as giberelinas, a aplicação destas na cultura do milho, durante o estágio vegetativo, resulta em maior desenvolvimento da parte aérea, sem afetar a produção de massa seca e o rendimento de grãos (VIEIRA JR, 1999), conforme observado na Figura 3. A função das giberelinas está associada à promoção do crescimento caulinar (TAIZ e ZEIGER, 2012) esse hormônio também inibe ou retarda a degradação de clorofila (RODRIGUES, 2008). Plantas submetidas a aplicações de giberelinas podem ser induzidas a alcançar maior altura. A aplicação foliar de giberelina (GA_1) em plantas de milho normal e anão promove o alongamento das plantas de milho anão e, conseqüentemente, aumento da estatura, e no milho normal apresenta pouco ou nenhum efeito (TAIZ e ZEIGER, 2012).

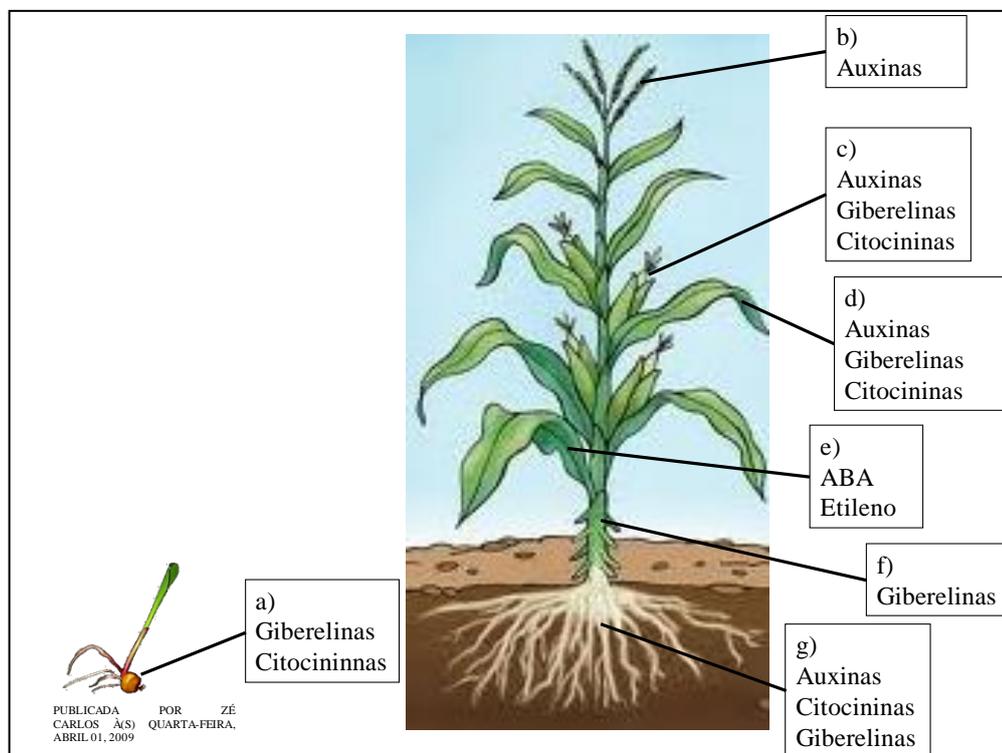


Figura 3. Atuação dos hormônios vegetais nos diferentes órgãos e fases da cultura do milho; a) germinação; b) floração; c) reprodução; d) crescimento das folhas; e) senescência foliar; f) crescimento do caule; g) crescimento da raiz.

Conforme Rodrigues (2008) o desenvolvimento do eixo embrionário é mediado por auxinas e citocininas, e o aumento tanto no número como no tamanho das células é decorrente da síntese protéica realizada pelo embrião. De maneira geral, as giberelinas estão envolvidas na transcrição genética, as citocininas na tradução e as auxinas na permeabilidade das membranas. O ácido giberélico por regular a expressão do gene da α -amilase, a qual hidrolisa o amido, tem a função de regulação na mobilização de reservas do endosperma durante a germinação de sementes.

A mistura destes reguladores vegetais está presente na formulação dos bioestimulantes, que são substâncias sintéticas ou naturais que aplicadas exogenamente possuem ações similares aos dos hormônios vegetais (CASTRO e VIEIRA, 2001). Os bioestimulantes promovem o equilíbrio hormonal das plantas, favorecendo a expressão do seu potencial genético, estimulando o desenvolvimento do sistema radicular (ONO et al., 1999). O emprego destes reveste-se de grande importância para o incremento de produção e lucratividade, sobretudo em sistemas de produção tecnificadas ou em locais que apresentem comprovadas situações de estresse (FACEELLI, 2010).

Os bioestimulantes otimizam a rendimento de grãos de diversas culturas e os reguladores vegetais contidos nesses compostos são moléculas sinalizadoras, naturalmente presentes nas plantas em concentrações baixas, sendo responsáveis por efeitos marcantes no desenvolvimento vegetal (TAIZ e ZEIGER, 2012).

O único bioestimulante composto da mistura de citocinina + giberelina + auxina registrado para a cultura do milho no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é o Stimulate[®] fabricado pela empresa Stoller do Brasil, contendo em sua formulação 90 mg L⁻¹ de cinetina (citocinina), 50 mg L⁻¹ de ácido indolilbutírico (auxina) e 50 mg L⁻¹ de ácido giberélico (giberelina) (RODRIGUES, 2008). Esse produto químico incrementa o crescimento e o desenvolvimento vegetal estimulando a divisão celular, a diferenciação e o alongamento das células; também aumenta a absorção e a utilização dos nutrientes e é especialmente eficiente quando aplicado com fertilizantes foliares, sendo também compatível com defensivos (CASTRO et al., 1998).

Milléo (2000), avaliando a eficiência agrônômica do Stimulate[®], aplicado via semente e foliar na cultura da soja, verificou que o produto foi agronomicamente eficiente, favorecendo a maior produção de vagens e grãos. Contudo, Ferreira et al. (2007) afirmam que o tratamento das sementes de milho com o bioestimulante Stimulate[®] e com o fertilizante Cellerate[®] não afeta a rendimento de grãos de grãos. Conceição (2011) observou que o tratamento de sementes com Stimulate[®] não influenciou na qualidade fisiológica das sementes de milho submetidas a diferentes épocas de colheita (ou métodos de debulha) e não observou influência no sistema radicular das plântulas de milho no estágio V4.

Atualmente, o uso de bioestimulantes pode ser considerado instrumento imprescindível para a otimização de sistemas tecnificados de produção, pois além de contribuir, significativamente, para a eficiência do uso racional de fertilizantes e amenizar

eventuais situações de estresse, incrementa os ganhos de rendimento de grãos e os níveis de sustentabilidade da atividade agrícola (FANCELLI, 2010). Conforme Rodrigues (2008), a principal razão para o uso de bioestimulantes na cultura do milho tem sido promover a germinação, visando reduzir as falhas ocorridas no estande e melhorar o desenvolvimento do sistema radicular das plantas. Assim, quanto maior a habilidade das plantas em distribuir seu sistema radicular no solo, melhor sua capacidade em explorar eficientemente estes recursos.

Segundo Vieira (2001), o bioestimulante Stimulate[®], nas doses: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mL por 0,5 kg de sementes de feijoeiro beneficiaram significativamente a germinação, a massa seca de raízes e número de plântulas normais e, conseqüentemente, redução na porcentagem de plântulas anormais. Para Santos (2005), o bioestimulante aplicado via sementes é capaz de originar plântulas de algodoeiro mais vigorosas, com maior comprimento, massa seca e porcentagem de emergência em areia e terra vegetal. Dourado Neto et al. (2004) obtiveram aumento no rendimento de grãos de milho com a aplicação de bioestimulante Stimulate[®] nas sementes. Dario e Baltiere (1998) observaram diferenças significativas no desenvolvimento das plantas quando trataram sementes de milho com bioestimulante Stimulate[®].

4. CONSIDERAÇÕES

Em busca de inovações para o melhor desenvolvimento e rendimento de grãos da cultura do milho surgem como alternativas a inoculação com a bactéria *A. brasilense* e o uso de bioestimulantes. A associação de *A. brasilense* com a planta de milho é uma boa alternativa para suprir parte da necessidade de nitrogênio requerida pela cultura através da fixação biológica. Além deste benefício, estudos (Hungria, 2011) comprovam que a bactéria induz a produção de hormônios vegetais (auxina, citocinina e giberelina), fazendo com que a planta se torne mais resistente ao déficit hídrico, patógenos e deficiências nutricionais. Contudo, para melhores resultados é necessário que a cultura tenha condições adequadas quanto à fertilidade, disponibilidade hídrica e manejo contra patógenos.

Outra tecnologia estudada é o uso de bioestimulantes, esses podem ser compostos pela mistura de reguladores vegetais (auxina, citocinina e giberelina) que tem grande influência na qualidade fisiológica da cultura, auxiliando no desenvolvimento da planta e, assim diminuindo estresse podendo proporcionar maiores rendimentos à cultura.

A cultura do milho tem altas exigências do nutriente N durante todo o seu ciclo, principalmente, nos estádios de germinação e florescimento, estando todas as características agronômicas da cultura ligadas à disponibilidade em níveis ideais do nitrogênio. Desta maneira, a deficiência de N é um dos fatores que mais limita a rendimento de grãos de milho, assim frequentemente a cultura do milho requer adubação nitrogenada de cobertura para complementar a quantidade de N disponibilizada pelo solo, garantindo a nutrição da planta e incrementando no rendimento final de grãos.

Assim, destaca-se a importância da utilização adequada de N e os estudos das tecnologias *A. brasilense* e bioestimulante para aperfeiçoar a rendimento de grãos da cultura do milho. O presente trabalho divide-se em três capítulos onde foram testadas as tecnologias de *A. brasilense* e bioestimulante associado a diferentes níveis de adubação nitrogenada na cultura do milho.

Desta forma, o presente trabalho será dividido em 3 capítulos. No capítulo I será abordada a ação do bioestimulante associado a doses crescentes de N. No capítulo II foi estudada a associação de *A. brasilense* com doses crescentes de adubação nitrogenada. E no capítulo III foi estudada ação de *A. brasilense*, aplicado no sulco de semeadura e no tratamento de sementes, associado à aplicação de bioestimulante vegetal na cultura do milho.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, G. C. **Efeito da inoculação de bactérias Diazotróficas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Bulkholderia* em genótipos de milho.** Fev. 2007. 65 p. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ..
- ALVES, A.C.; OGLIARI, J.B.; FONSECA, J.A. da. Contribuição de componentes de rendimento na rendimento de grãos de grãos em variedades de polinização aberta de milho. **Revista brasileira Agrociência**, Pelotas, v.11, n. 2, p. 161-166, 2005.
- AMADO, T. J.; MIELNICZUK, J.; AITA, C.. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.241-248, 2002.
- ANDRADE, A. C.; FONSECA, D. M.; QUEIROZ, D. S.; SALGADO, L. T.; CECON, P. R.. Adubação nitrogenada e potássica em capim-elefante (*Pennisetumpurpureum* Schum. cv. Napier). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, Edição especial, p.1643-1651, 2003.
- ARNON, I. Mineral nutrition of maize. Bern: International Potash Institute, 1975. 452p.
- BALBINOT JR., A. A.; BACKES, R. L.; ALVES, A.C.; OGLIARI, J. B.; FONSECA, J. A. da.. Contribuição de componentes de rendimento na rendimento de grãos de grãos em variedades de polinização aberta de milho. **Revista brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.11, n. 2, p.161-166, 2005.
- BÁRBARO, I. M.; BRANCALIANO, S. R.; TICELLI, M.. É possível fixação biológica de nitrogênio no milho. **INFOBIBOS – Informações Tecnológicas**, 2008. Online. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_2/fixacao/index.htm>. Acesso em: 25 out. 2011.
- BARROS NETO, C. R. de. **Efeito do nitrogênio e da inoculação de sementes com *Azospirillum brasiliense* no rendimento de grãos de milho.** 2008. 29 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná.
- BERGER, J. Maize production and the manuring of maizes. Center d'Estudo de l'Azote. p.38-41. 1962. *apud* FANCELLI, A.L. Fisiologia, nutrição e adubação do milho para alto rendimento. In:_____ **SIMPÓSIO ROTAÇÃO SOJA/MILHO NO PLANTIO DIRETO,1. Piracicaba, SP: POTAPHOS, 2000.**
- BRACCINI, A. L.; ÁVILA, M. R.; ALBRECHT, L. P.; CATO, S. C.; BARBOSA, M. C. **Eficiência da inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. na cultura do milho.** Maringá, 2010.
- BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. N.. Regulação da absorção e assimilação de nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v.30. n.2. Santa Maria, abr. 2000.
- CANTARELLA, H. Calagem e adubação do milho. In: BÜLL, L.T.; CANTARELLA, H.

Cultura do milho: fatores que afetam a rendimento de grãos. Piracicaba: Potafos, 1993. p.147 - 169.

CÁCERES, E. A. R.. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp.. American Society for Microbiology. **Applied and Environmental Microbiology**, v.44, n.43, p.990-991, 1982.

CASTRO, P.R.C.; PACHECO, A.C.; MEDINA, C.L. Efeitos de Stimulate e de Micro-Citros no Desenvolvimento Vegetativo e na Rendimento de grãos da Laranjeira 'Pêra' (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Revista Ciência Agronômica**. Piracicaba, vol. 55, n. 2, 1998.

CAVALLET, L.E. et al. Rendimento de grãos do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, DEAg/UFPB, v.4, n.1, p.129-132, 2000.

CONCEIÇÃO, P.M.da. **Sistema radicial de plântulas como indicativo de vigor e efeito de bioestimulantes em sementes de feijão e de milho.** Tese de *Doctor Scientiae*, Pós-Graduação em fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2011.

DARIO, G. J. A.; BALTIERI, E. M. Avaliação da eficiência do regulador vegetal Stimulate (citocinina + ácido indolbutírico + ácido giberélico) na cultura do milho (*Zea mays* L.). **Relatório Técnico**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1998. 12p.

DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O.; KENNER, M.H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária**, Brasília, v.31, n.9, p.645-651, 1996.

DÖBEREINER, J.. Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas. In: CARDOSO, E.J.B.N., TSAI, S.M., NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. p.173-180.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y.. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**. v.22, n.2 p.107- 149, 2003.

DOURADO NETO, D.; DARIO, G. J. A.; VIEIRA JUNIOR, P. A.; MANFRON, P. A., MARTIN, T. N.; BONNECARRÉRE, R. A. G.; CRESPO, P. E. N. Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, RS, v.11, n.1, p. 1-9, 2004.

ECKERT, B., WEBER, O. B., KIRCHHOF, G., HALBRITTER, A., STOFFELS, M., HARTMANN, A. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p. 17-26, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Produção correção e adubação fixação biológica de Nitrogênio**. Brasília, DF, 2005. Online. Disponível em: < http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/canadeacucar/arvore/CONTAG01_31_711200516717.html > Acesso em: 15 nov. 2012.

- FALLIK, E.; OKON, Y.; FISCHER, M.. The effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on metabolic enzyme activity in maize root seedlings. **Symbiosis**, v.6, n.1 p.17-28, 1988
- FANCELLI, A.L.. Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes na cultura de milho. **IPNI Informações Agrônomicas**, n. 131 Piracicaba, SP, 2010. 24p.
- FANCELLI, A.L. Cultura do milho: a importância da tecnologia. **Informações Agrônomicas**, n.78, junho, 1997. p.4-6.
- FANCELLI, A.L. Fisiologia, nutrição e adubação do milho para alto rendimento. In: **Simpósio rotação soja/milho no plantio direto**,1. Piracicaba, SP: POTAPHOS, 2000.
- FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. Produção de milho. 2.ed. Guaíba: **Agropecuária**, 2004. 360p.
- FERREIRA, L.A.; OLIVEIRA, A.O.; VON PINHO, E.V.de R.; QUEIROZ, D.L.de. Bioestimulante e fertilizante associados ao tratamento de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 29, n. 2, p.80-89, 2007.
- FRANÇA, G.E.; COELHO, A.M.; RESENDE, M.; BAHIA FILHO, A.F.C. Parcelamento da adubação nitrogenada em cobertura na cultura do milho irrigado. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo**: 1992-1993. Sete Lagoas: 1994. p.28-29.
- IMSANDE, J., TOURAINE, B. N Demand and regulation of nitrate uptake. **Plant Physiology**, Lancaster, v.105, p.3-7, 1994.
- JASMIN, J. M.. Caracterização de *Azospirillum brasilense* e *Azospirillum lipoferum* isoladas de Teosinte e milho e sua interação com raízes de milho. 1988. Tese (Mestrado em Genética) – Universidade de Campinas, Campinas, SP.
- LARA CABEZAS, W.A.R.; ARRUDA, M.R.; CANTARELLA, H.; PAULETTI, V. TRIVELIN, P.C.O.; BENDASSOLLI, J.A. Imobilização de nitrogênio da uréia e do sulfato de amônio aplicado em pré-semeadura ou cobertura na cultura do milho no sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, n.2, p.215-226, 2005.
- MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CAMEIRO, N. P.; PAIVA, E.. Fisiologia do milho. **Circular Técnica**, n. 22 Sete Lagoas, MG: EMBRAPA, 2002. 23p. (EMBRAPA.).
- MAGALHÃES, J.V. **Absorção e translocação de nitrogênio por plantas de milho (*Zea mays* L.) submetidos a períodos crescentes de omissão de fósforo em solução nutritiva**. 1996. 76f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- MARTÍNEZ-MORALES, L. J et al. Indole-3-butyric acid (IBA) production in culture medium by wild strain *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 228, p. 167-173, 2003.

MILLÉO, M. V. R. Avaliação da eficiência agrônômica do produto Stimulate[®] aplicado no tratamento e em pulverização foliar sobre a cultura da soja (*Glycine max* L.). **Relatório Técnico**. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2000. 18p.

MUÑOZ-GARCIA, A.; CABALLERO-MELLADO, J.; VALDÉS, M. Promoción del crecimiento del maíz por cepas productoras de sideróforos de *Azospirillum* y *Pseudomonas* fluorescentes. In: Congreso Nacional de la Feijacion biológica del nitrogênio y I encuentro ibero-americano de investigacion sobre fijacion de nitrogênio, 3., 1991. Cuernavaca. **Anais...** Cuernavaca, México, 1991. p.61.

OKON, Y.; ITZIGSOHN, R. The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yields. **Biotechnology Advances**, v.13, n.3 p.415- 424, 1995.

ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; SANTOS, S.O. Efeito de fitorreguladores sobre o desenvolvimento de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Carioca. **Revista Biociências**, v. 5, n. 1, p. 7-13, 1999.

PERIN, L.; SILVA, M.F da; FERREIRA, J.S.; CANUTO, E.L.; MEDEIROS, A.F.A.; OLIVARES, F.L.; REIS, V.M. Avaliação da capacidade de estabelecimento endofítico de estirpes de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* em milho e arroz. **Revista Agronomia**, Seropédica, vol. 37, n.2, p. 47-53, 2003.

RODRIGUES, J. D. Biorreguladores, aminoácidos e extratos de algas: verdades e mitos. In:_____ **Milho: nutrição e adubação**. Ed. Antônio Luiz Fancelli. Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, 2008. p.100-111

SALA, V. M. R.; SILVEIRA, A. P. D. da; CARDOSO, E. J. B. N. Bactérias Diazotróficas Associadas a Plantas Não-leguminosas. In: SILVEIRA, A. P. D. da; FREITAS, S. dos S. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Campinas. Instituto Agrônômico, 2007. Cap.6, p. 97-115.

SANTOS, C.M.G; Elvis Vieira, E.L.. Efeito de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas e crescimento inicial do algodoeiro. **Magistra**, Cruz das Almas, BA, v. 17, n. 3, p. 124-130, 2005.

SCHRÖDER, J. J.; NEETESON, J. J.; OENEMA, O.; STRUIK, P. C. Does the crop or the soil indicate how to save nitrogen in maize production? Reviewing the state of the art. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 66, n. 2,p. 151-154, 2000.

SILVA, A. A. O.; FELIPE, T. A.; BACH, E. E. Ação do *Azopsirillum brasiliense* no desenvolvimento das plantas de trigo (variedade IAC-24) e cevada (variedade CEV 95033). **Conscientiae Saúde**, Universidade Nove de Julho, São Paulo, v. 3, p. 29-35, 2004.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotechnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC Ministério da Educação, ABEAS, Lavras: ESAL, FAEPE, 1988. 236 p.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y.; LOON, L. C. Plant Growth-Promoting Actions of Rhizobacteria. In L. C. VAN LOON editor: **Advances in Botanical Research**, v.51, Burlington: Academic Press, p. 283-320, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E..Plant physiology. Trad. SANTARÉM, E. R., et al. 3.ed, Porto Alegre: **Artmed**, 2012.

VARVEL, G.E.; SCHPERS, J.S.; FRANCIS, D.D. Ability for inseason correction of nitrogen deficiency in corn using chlorophyll meters. **Soil Science of American Journal**, Madison, v.61, n.4, p.1233-1239, 1997.

VIEIRA, E. L. **Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento radicular e rendimento de grãos de soja (*Glycine max (L.) Merrill*), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris L.*) e arroz (*Oryza sativa L.*)**. ESALQ, 2001. 122p. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

VIEIRA JR, P.A.. MILHO. In: CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R. A. Ecofisiologia de cultivos anuais. 1. ed. rev. São Paulo: **Nobel**, 1999. p. 41-71.

WARNCKE, D.D.; BARBER, S.A. Ammonium and nitrate uptake by corn (*Zea mays L.*) as influenced by nitrogen concentration and $\text{NH}_4^+ / \text{NO}_3^-$ ratio. **Agronomy Journal**, Madison, v.65, p.950-953, 1973.

YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. Como melhorar a eficiência da adubação nitrogenada do milho? **Informações Agronômicas**, Potafos, n.91 Piracicaba, SP, 2000. 5p.

6. CAPÍTULO 1 - BIOESTIMULANTE VEGETAL ASSOCIADO A NÍVEIS DE ADUBAÇÃO NITROGENADA, NA CULTURA DO MILHO

BIOSTIMULANT ASSOCIATED WITH DOSES OF NITROGEN FERTILIZATION IN CORN CROP

RESUMO

Os bioestimulantes promovem o desenvolvimento das plantas, auxiliando na absorção de nutrientes e água e são utilizados em diversas culturas. O nitrogênio (N) é o nutriente mais requerido pela cultura do milho e sua deficiência acarreta em perdas no rendimento e qualidade das plantas e grãos. Este experimento objetivou avaliar a aplicação do bioestimulante vegetal Stimulate® associado a níveis crescentes de adubação nitrogenada, na cultura do milho. O experimento foi conduzido na fazenda Galo Vermelho no município de Guarapuava, PR. Os tratamentos basearam-se em aplicação do bioestimulante vegetal Stimulate® na dose de 250 mL ha⁻¹, via aplicação foliar no estágio fenológico V4 e tratamento controle (sem aplicação) associados a cinco doses de N (0; 75; 150; 225 e 300 kg ha⁻¹ de N). O delineamento experimental foi blocos ao acaso com 10 tratamentos e 12 repetições. Avaliaram-se as variáveis relativas aos componentes de rendimento (rendimento de grãos, massa de mil grãos, grãos ardidos, fileiras por espiga, grãos por fileira e grãos por espiga) e características da cultura (teor de clorofila, índice de espigamento, altura de planta e de inserção de espiga, folhas senescentes no florescimento, teor de N foliar e índice de área foliar). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey (5%). Verificou-se que a aplicação do bioestimulante Stimulate®, em V4, intercalado com a aplicação de cobertura de N, em V2 e V5, resultou na redução do rendimento de grãos. Entretanto, as crescentes doses de N aplicadas promoveram acréscimo significativo, com comportamento quadrático, aos componentes de rendimento e características da cultura. Concluindo que os fatores testados se comportam de maneira independente, assim, o N em cobertura aumenta o rendimento final de grãos, e a aplicação de bioestimulante, via foliar no estágio V4, compromete o rendimento de grãos.

Palavras-chave: *Zea mays* L., auxina, citocinina, giberelina, rendimento.

ABSTRACT

Biostimulants may provide plant development and increase nutrient and water uptake in several crops. Nitrogen (N) is the most required nutrient by corn crop and its deficiency do result in yield losses and decrease in grain quality. An experiment was carried out in the Galo Vermelho Farm in Guarapuava, Paraná, Brazil, with objective of evaluating the plant biostimulant Stimulate[®] associated with doses of nitrogen fertilization in corn crop. The experimental design was complete randomized blocks with ten treatments and twelve replications. The treatments with biostimulant were: control (no application) and foliar application at V4 growth stage at 250 mL ha⁻¹ of Stimulate[®]; and the N doses evaluated were: 0, 75, 150, 225 and 300 kg ha⁻¹. Yield components (grain yield, thousand grain mass, damaged kernels, leaf index, number of rows per leaf, number of grains per row and number of grains per leaf) and the crop characteristics (chlorophyll content, plant height, leaf insertion height, senescent leaves at flowering, foliar nitrogen content and leaf area index) were evaluated. The biostimulant application associated with nitrogen fertilization resulted in higher grain yield reduction. However, there was significant quadratic response in yield components and crop characteristics with increase of N doses.

Keywords: *Zea mays* L., auxin, cytokinin, gibberellin, yield.

6.1 INTRODUÇÃO

O elevado potencial produtivo, a composição química e o valor nutritivo fazem com que o milho seja consumido e cultivado mundialmente, com isso a cultura desempenha papel importante no sistema de produção brasileiro (FANCELLI e DOURADO NETO, 2000).

Os conhecimentos sobre a influência de alguns fatores que definem o potencial produtivo do milho podem contribuir para a redução de estresses (FANCELLI e DOURADO NETO, 2000). Para a cultura, o potencial de produção é definido precocemente, ou seja, por ocasião da emissão da 4^a folha, podendo se estender até a 6^a folha, principalmente, em função da natureza dos principais genótipos utilizados no Brasil (FANCELLI, 2000).

Na cultura do milho, apesar de serem pequenas as exigências nutricionais nos estádios

iniciais, as altas concentrações de N, na zona radicular, são benéficas na promoção de um maior desenvolvimento da planta (MENGEL e BARBER, 1974; VARVEL et al., 1997). Nessa fase inicial ocorrem às diferenciações das várias partes da planta e a deficiência de N reduz o número de óvulos nos primórdios da espiga (SCHREIBER et al., 1988; YAMADA, 1996) reduzindo a significativamente a rendimento de grãos.

O N é considerado um dos principais fatores de produção, responsáveis pelo acréscimo da rendimento de grãos e de proteína dos grãos de milho (AMADO et al., 2002), fazendo parte de nucleotídeos e aminoácidos, que compõe a estrutura dos ácidos nucléicos e das proteínas, respectivamente.

A disponibilidade de N afeta diretamente a área foliar, a taxa fotossintética, o crescimento do sistema radicular, o tamanho de espigas, o número e a massa de grãos e a sanidade de grãos (PIONEER, 1995). Segundo Grove et al. (1980) e Coelho et al. (1992), a concentração de N na planta de milho, considerada como adequada para a produção máxima, está em torno de 10 g kg^{-1} na planta. Assim, para uma rendimento de grãos de 9.000 kg ha^{-1} de grãos e 7.000 kg de matéria seca, a cultura extrai do solo em torno de 160 kg ha^{-1} de N.

Novas tecnologias têm sido empregadas visando o incremento na produção da cultura do milho (SILVA et al., 2008), como o uso de bioestimulantes. Os bioestimulantes fazem parte do grupo de substâncias vegetais denominadas de hormônios vegetais. Dentre esses se pode citar as auxinas, citocininas e as giberelinas (TAIZ e ZEIGER, 2006). Aplicações de bioestimulantes no milho podem contribuir para a melhoria da relação raiz e parte aérea, para a maior concentração de reservas no colmo, bem como, para aumentar a eficiência do processo de translocação de fotoassimilados para os grãos, culminando no aumento de rendimento de grãos (FANCELLI, 2010).

As auxinas são responsáveis pelo crescimento das plantas, influenciando no mecanismo de expansão celular (TAIZ e ZEIGER, 2004). As citocininas estão relacionadas ao processo de divisão celular, senescência foliar, mobilização de nutrientes, dominância apical, formação e atividade dos meristemas apicais, expansão de folhas, desenvolvimento floral, germinação de sementes, fotossíntese, entre outros (TAIZ e ZEIGER, 2004). A aplicação de giberelina, na cultura do milho, durante o estágio vegetativo, resulta em maior desenvolvimento da parte aérea, sem afetar a produção de massa seca e os rendimentos de grãos (VIEIRA, 1999).

Castro et al. (1998) classificaram o Stimulate®, como sendo um bioestimulante que

contém reguladores vegetais e traços de sais minerais. Sua composição apresenta o ácido indolilbutírico (auxina) 0,005%, cinetina (citocinina) 0,009% e o ácido giberélico (giberelina) 0,005%. Alguns dos benefícios obtidos com a utilização dos reguladores vegetais são os incrementos do crescimento e desenvolvimento vegetal, estimulando a divisão celular, a diferenciação e o alongamento das células, aumento da absorção e a utilização dos nutrientes.

Assim, o objetivo deste experimento foi avaliar a aplicação do bioestimulante vegetal Stimulate® associado a diferentes níveis de adubação nitrogenada sobre as características agronômicas da cultura do milho.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido durante a safra agrícola 2011/2012 na Fazenda Galo Vermelho, situada no município de Guarapuava, PR (ANEXO I). A área experimental localiza-se a 25°33' latitude Sul e 51°29' longitude Oeste e altitude de, aproximadamente, 1100m, a topografia do local é considerada plana. O clima da região foi classificado, segundo Köppen, como temperado de altitude do tipo Cfb (subtropical mesotérmico úmido), sem estação seca definida, com verões amenos (IAPAR, 2011), sendo a temperatura média durante a realização do experimento de 18,7°C, a média máxima de 23,4°C e a mínima de 14,1°C, de acordo com o ANEXO II. A precipitação média anual foi de 1944 mm e a umidade relativa de 77,9%, deste modo obtendo-se as condições climáticas ideais para o desenvolvimento da cultura do milho conforme observado no ANEXO IV.

O solo da área foi classificado como Latossolo Bruno Distroférico típico (EMBRAPA, 2006). Antes da instalação da cultura foi realizada a coleta de solo para análise química, cujos resultados constam no ANEXO III.

A cultura do milho foi implantada em sucessão à pastagem de aveia preta (*Avena strigosa* L.) e azevém (*Lolium multifforme* Lam.). Utilizou-se o delineamento de blocos ao acaso em esquema fatorial 2x5 (bioestimulante x doses de N), totalizando 10 tratamentos com 12 repetições. Os tratamentos se constituíram da aplicação do bioestimulante Stimulate® (250 mL ha⁻¹), aplicado via foliar no estágio V4 da cultura (10/11/2011), e tratamento controle, sem a aplicação, associado a cinco doses de nitrogênio (0; 75; 150; 225; 300 kg ha⁻¹), na forma de uréia (45% de N). As doses de N foram sugeridas de acordo com a necessidade

média da cultura, posicionando doses acima e abaixo da necessidade. As pulverizações foliares foram realizadas utilizando pulverizador costal contendo pontas de pulverização de jato leve (leque) espaçadas em 0,50 m, sendo utilizada pressão de trabalho de 30 lb pol⁻², resultando num volume de calda de 200 L ha⁻¹.

A semeadura, manual, do experimento foi realizada no dia 03/10/11, em sistema de semeadura direta, utilizando o híbrido 30F53HRR da empresa Pioneer[®] Sementes, escolhido em função de ocupar as maiores áreas comerciais na região. A unidade experimental constituiu-se de quatro linhas de semeadura com sete metros de comprimento e 2,4 m de largura, sendo a área útil de cada linha de 16,8 m², com espaçamento entre linhas de 0,60 m e espaçamento entre plantas de 0,16 m, totalizando uma população de 80.000 plantas por hectare. No estágio V2 realizou-se o desbaste das plantas, para o ajuste da densidade populacional.

Na adubação de base se utilizou 350 kg ha⁻¹ da formulação N-P-K, 12-31-17 + 0,4% Zn. Realizou-se a adubação de cobertura nos estádios V2 (01/11/2011) e V5 (17/11/2011). O manejo quanto ao controle químico, de plantas daninhas, foi efetuado com Mesotriona, pertencente ao grupo químico das tricetonas (Callisto[®]) e com Atrazina (1,650 i.a), herbicida do grupo das triazinas. Para o controle de doenças houve a aplicação do fungicida Opera[®] (p.a. piraclostrobina), na dose de 0,75 L ha⁻¹, que ocorreu no dia 20/12/2011, no estágio V8, na dose de 1 L ha⁻¹. As pulverizações foliares foram realizadas utilizando pulverizador costal com quatro bicos.

O florescimento (estádio R1) ocorreu no dia 28/12/2011, após este evento (04/01/2012), efetivou-se a avaliação de índice de área foliar (IAF) que compreende a relação entre a área foliar das plantas e o espaço ocupado por elas em um metro quadrado (SANGOI, 2011). Na mesma ocasião foi realizada a leitura do teor de clorofila na folha com uso do clorofilômetro portátil modelo Falker CFL1030 utilizando o método SPAD (unidade de medida adimensional). Neste aparelho as unidades de mensuração são estimadas pela leitura diferencial da quantidade de luz transmitida pela folha em três regiões de comprimento de onda (635, 660 e 880 nm) (FALKER, 2008). A leitura foi realizada no terço médio da folha índice (folha da espiga), com duas leituras por folha, tendo como amostragem cinco plantas escolhidas aleatoriamente nas duas linhas centrais. Ainda, na ocasião, foram coletadas cinco folhas índices para extração do teor de nitrogênio foliar, pelo método de azul-de-indofenol, metodologia descrita pela Embrapa (SILVA, 2009).

Antes da colheita realizou-se a avaliação de altura de planta e altura de inserção de espiga. Para determinação destas variáveis foram medidas três plantas com homogeneidade morfológica e fenológica da terceira linha de cada parcela. A estatura da planta correspondeu à medida da distância do colo da planta altura da folha bandeira. A altura de inserção de espiga correspondeu à distância entre o colo da planta e o nó em que estava inserida a espiga superior. Ainda, realizou-se a contagem do número total de plantas e espigas da linha colhida, obtendo-se a população final e o índice de espigamento.

A colheita do experimento ocorreu na maturação fisiológica das plantas (24/03/2012), colheram-se as espigas de 24 plantas por parcela. Em seis espigas, escolhidas aleatoriamente pelo seu tamanho (duas pequenas, duas médias e duas grandes), se efetuou a contagem de número de grãos por fileira e número de fileiras por espiga, estimando-se o número de grãos por espiga. Após trilhar as espigas efetuou-se a massa de grãos por parcela, com a pesagem de 300 grãos estimou-se a massa de mil grãos, em amostras de 250 g foi realizada a avaliação de grão ardido, obtendo-se a porcentagem relativa de grãos ardidos e com a correção da umidade para 13% converteu-se o valor para kg ha^{-1} obtendo-se o rendimento de grãos.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR e para as doses de N utilizou-se a regressão. A variável de grãos ardidos sofreu transformação $\sqrt{x} + 1$, as demais médias analisadas não sofreram transformações. Para as equações quadráticas, estimou-se a dose de N para obter a máxima eficiência técnica (MET) e a máxima eficiência econômica (MEE), baseando-se no preço atual do kg de milho R\$ 0,40 e R\$ 2,73 o kg de N (CONAB, 2013).

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise de variância (Tabela 1. Tabela 1) pode-se observar que o teor de clorofila *b*, rendimento de grãos e massa de mil grãos foram afetados pelos tratamentos com bioestimulante. Os teores de clorofilas *a*, *b* e *total* e as variáveis agronômicas de: rendimento de grãos, grãos por fileira, grãos por espiga, número de folhas senescentes, teor de N foliar no estádio R1 e índice de área foliar foram influenciadas pelos níveis de adubação nitrogenada.

Tabela 1. Teores de clorofilas *a*, *b* e *total* (%), rendimento de grãos (kg ha⁻¹), massa de mil grãos (MMG (g)), população de plantas, espigas por planta, grãos ardidos, altura de planta (cm), altura de inserção de espiga (cm), fileiras por espiga, grãos por fileira, grãos por espiga, índice de área foliar (cm²), folhas senescentes no florescimento e total de folhas no florescimento em função da inoculação de *Azospirillum brasilense* e aplicação de bioestimulante na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

Fator de variação	GL	Quadrados Médios					
		Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total	Rendimento de grãos	MMG ³	População de plantas
Bloco	3	31,31 (0,00)**	4,30 (0,00)**	55,41 (0,00)**	3444987,08 (0,00)**	835,58 (0,00)**	2624039,89 (0,82)
Bioestimulante (B)	1	0,60 (0,49)	4,45(0,03)*	8,31 (0,11)	9188698,07 (0,00)**	3051,29 (0,01)**	3826545,99 (0,35)
Doses N (N)	4	38,52 (0,00) **	73,51(0,00)**	217,09(0,00)**	40224040,95 (0,00)**	245,74 (0,39)	1960514,25 (0,77)
B x N	4	2,02 (0,17)	0,71(0,52)	4,31(0,26)	462066,79(0,40)	218,33 (0,46)	7487747,27 (0,15)
Erro	87	1,23	0,87	3,2	462066,79	236,89	4360993
CV %		2,89	6,26	3,36	6,17	5,4	2,58
Média		38,37	14,93	53,29	10897,97	284,91	81091,43

Continuação Tabela 1.

Fator de variação	GL	Quadrados Médios					
		Espigas por planta	Ardido ¹	Altura		Fileiras por espiga	Grãos por fileira
				Planta	Inserção		
Bloco	3	0,0021 (0,01)**	0,24 (0,47)	134,23 (0,00)**	43,71 (0,15)	0,57 (0,09)	2,4507 (0,44)
Bioestimulante (B)	1	0,0003 (0,59)	0,36 (0,23)	50,01 (0,09)	73,60 (0,12)	0,59(0,19)	0,0021 (0,98)
Doses N (N)	4	0,0005 (0,64)	0,44 (0,14)	156,29 (0,00)**	167,75 (0,00)**	0,59(0,19)	69,07 (0,00)**
B x N	4	0,0003 (0,81)	0,25 (0,41)	10,26 (0,65)	15,41 (0,72)	0,70 (0,91)	3,26 (0,26)
Erro	87	0,0009	0,25	16,54	29,24	0,59 (0,15)	4,94
CV %		2,85	33,64	1,85	4,42	0,34	5,14
Média		1,03	1,49	220,29	122,24	3,46	31,55

Continuação Tabela 1.

Fator de variação	GL	Quadrados Médios				
		Grãos por espiga	Folhas senescentes no florescimento	Índice de área foliar	Total de folhas no florescimento	Teor de N
Bloco	3	1166,80 (0,37)	1,66 (0,00)**	0,22 (0,01)**	0,98 (0,05)*	19,45 (0,37)
Bioestimulante (B)	1	491,06 (0,50)	0,23 (0,53)	0,002 (0,89)	0,08 (0,70)	9,65 (0,47)
Doses N (N)	4	25121,54 (0,00)**	34,47 (0,00)**	4,97 (0,00)**	0,30 (0,67)	462,91 (0,00)**
B x N	4	1057,51 (0,42)	0,28 (0,75)	0,03 (0,89)	0,47 (0,51)	32,54 (0,14)
Erro	87	1065,67	0,58	0,09	0,51	18,48
CV %		6,16	24,16	5,79	4,49	15,12
Média		530,24	3,14	5,11	15,98	28,43

(¹) Variável transformada para $\sqrt{x+1}$. (²) CV coeficiente de variação. (³) MMG Massa de mil grãos. **significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 01$), *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($01 < p < 05$).

Na Tabela 2 apresentam-se as médias obtidas com a aplicação de bioestimulante, pela qual pode-se observar que, para o teor relativo de clorofila *b*, o melhor resultado obtido foi no tratamento controle (15,12 mg g⁻¹), quando comparado com a aplicação de bioestimulante (14,73 mg g⁻¹). Este resultado difere do resultado encontrado por Wanderley Filho (2011) que utilizou o Stimulate[®] na cultura da cana-de-açúcar e verificou aumento de 5,76 mg g⁻¹ no teor de clorofila total em relação ao tratamento controle.

O rendimento de grãos foi afetada negativamente com a utilização de Stimulate[®] (Tabela 2), reduzindo em 553,43 kg ha⁻¹ no tratamento com a aplicação do bioestimulante. Este resultado difere dos encontrados por Dourado Neto et al. (2007), onde foram utilizadas diferentes doses de bioestimulante, no TS e em aplicação foliar no estágio V2 da cultura do milho, os resultados encontrados mostraram que houve acréscimo de rendimento de grãos para todos os tratamentos. Quando aplicado bioestimulante aos 43 dias após a semeadura, do milho (via foliar), em três doses do produto comercial (p.c.), 0,25, 0,50 e 0,75 L ha⁻¹, Dourado Neto et al. (2004) observaram incremento de 90,28; 60,76 e 65,97 kg ha⁻¹, respectivamente.

Entretanto, Ferreira et al. (2007), com o uso associado de dois bioestimulantes via TS em pré-semeadura do milho, observaram maior desenvolvimento da cultura e, conseqüentemente, maior altura de inserção das espigas; porém, para os parâmetros de estande final de plantas, número de espigas e rendimento de grãos não foram observadas diferenças significativas, entre os tratamentos avaliados. Fancelli (2005) determinou que o uso de bioestimulantes composto por giberelina, citocinina e auxina nas sementes ou no estágio relativo à emissão da quarta folha da cultura do milho, contribuiu para a melhoria do desempenho da planta e para o aumento de rendimento na ordem de 828 kg ha⁻¹ e de 984 kg

ha⁻¹, quando aplicados via TS e foliar respectivamente.

Carvalho e Nakagawa (2000) relatam que os bioestimulantes podem, algumas vezes, inibir o processo de germinação das sementes e outras fases do crescimento. Vorpagel (2010) estudando o efeito do bioestimulante observou que houve resultado com tendências negativas em termos de rendimento de grãos, apesar de não diferir estatisticamente quando comparado aos outros tratamentos.

Tabela 2. Médias do teor de clorofila *b*, rendimento de grãos (kg ha⁻¹) e massa de mil grãos (g), nos tratamentos com aplicação foliar de bioestimulante no estádio V4 da cultura do milho. Guarapuava, PR, 2013.

Tratamento	Rendimento de grãos	Massa de mil grãos	Clorofila <i>b</i>
	(kg ha ⁻¹)	gramas	Spad
Controle	11174,69 a	289,95 a	15,12 a
Bioestimulante	10621,26 b	279,86 b	14,73 b
Média Geral	10897,97	284,91	14,93

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Quanto à massa de mil grãos (Tabela 2) observou-se redução de 10,09 g no tratamento com a aplicação foliar de bioestimulante. Dourado Neto et al. (2004) obtiveram redução de 25 g para massa de mil grãos com a utilização de 0,25 L ha⁻¹ de bioestimulante, aplicado aos 43 dias após a semeadura, comparando com aplicação via TS e sulco de semeadura. Assim, concluíram que a aplicação de bioestimulante é mais eficiente quando realizada no tratamento de sementes, em comparação à pulverização no sulco de semeadura e pulverização com 43 dias após a emergência.

Os resultados obtidos com o uso de bioestimulante (Tabela 2), possivelmente, são justificados devido ao parcelamento das doses, em cobertura, da adubação nitrogenada, que foram efetuadas nos estádios V2 (01/11/2011) e V5 (17/11/2011), sendo que a aplicação do bioestimulante vegetal se deu no estádio V4 (10/11/2011). Assim, acredita-se que ocorreu estresse com efeito fitotóxico na planta, devido à aplicação de N, potencializando o comprometimento da rendimento de grãos da cultura. Isso se deve ao fato de que no estádio de quatro a seis folhas ocorrem às diferenciações das várias partes da planta e a definição de sua produção potencial (SCHRÖDER et al., 2000), que são comprometidos quando ocorre algum estresse na planta.

Os bioestimulantes possibilitam o aumento na absorção de nutrientes, água e influenciam na atividade hormonal das plantas. Provavelmente, devido a esse aumento de

absorção de nutrientes houve um excesso de absorção de N, ocasionando um desequilíbrio nutricional, momentâneo, refletindo de forma negativa no rendimento. Conforme Vargas et al. (2010) a fitotoxicidade foliar ocorre porque os fertilizantes nitrogenados são aplicados na forma de sais. O uso destes fertilizantes em altas doses na aplicação a lanço provoca redução do metabolismo da planta e, conseqüentemente, traz prejuízos ao rendimento da cultura.

Na Figura 4, observa-se o aumento dos teores de clorofilas *a*, *b* e *total* conforme as doses crescentes de N, até as doses de 212; 232 e 223 kg ha⁻¹ de N, respectivamente, proporcionando incremento quadrático nos teores de clorofila foliar. Nas doses de 225 e 300 kg ha⁻¹ de N, se observa redução dos teores de clorofila, devido à planta não responder mais ao aumento do fornecimento de N. O teor relativo de clorofila na folha vem sendo considerado o melhor indicativo do nível de N (RAMBO et al., 2004), devido a sua praticidade e economia da determinação por clorofilômetros (MALAVOLTA, 1997). A determinação do teor relativo de clorofila tem sido usada para prever a necessidade de adubação nitrogenada, em cobertura, em várias culturas, especialmente em trigo (BREDEMEIER, 1999), arroz (SINGH et al., 2002) e milho (ARGENTA et al., 2004).

Na Figura 5 têm-se as médias para o teor de N foliar nos estádios do florescimento e observa-se que o teor de N disponível aumenta de forma quadrática conforme as doses crescentes de N, assim, obteve-se 32,05 g kg⁻¹ com a utilização da dose de 260 kg ha⁻¹. Aratani et al. (2006) verificaram que o teor de nitrogênio das folhas variou linearmente com o incremento da adubação. O teor de N foliar apresentou relação com o teor de clorofila, porém o maior teor de clorofila total (223 kg ha⁻¹ de N) não foi obtido com a mesma dose que se obteve o maior teor de N foliar (260 kg ha⁻¹ de N). Quando o N é absorvido em excesso, acumula-se como nitrato. Nessa forma, o N não se associa à molécula de clorofila e, portanto, não pode ser detectado pelo medidor de clorofila (DWYER et al., 1995).

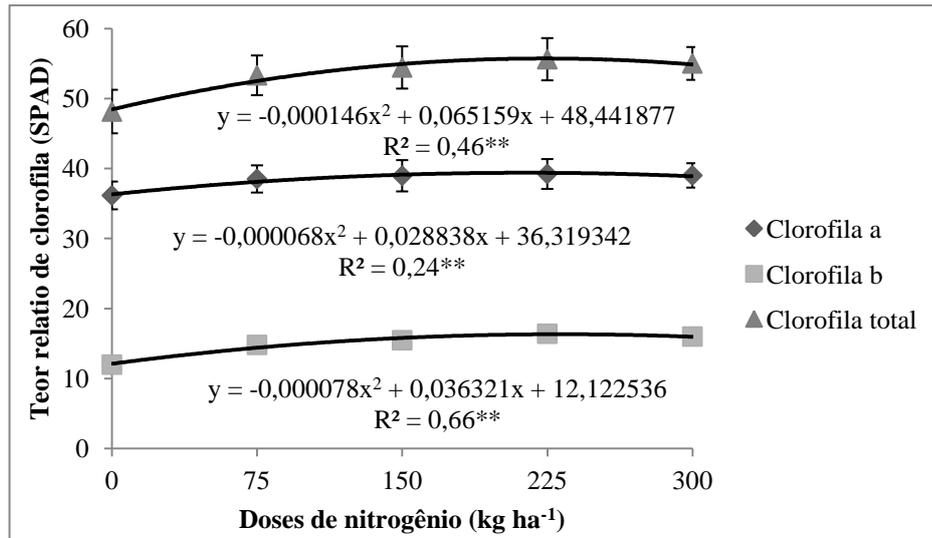


Figura 4. Teor relativo de clorofilas *a*, *b* e *total* em função da adubação nitrogenada na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

**, * Significativo ao nível de 1 e 5 % de probabilidade pelo teste F, respectivamente. As barras referem-se ao desvio padrão.

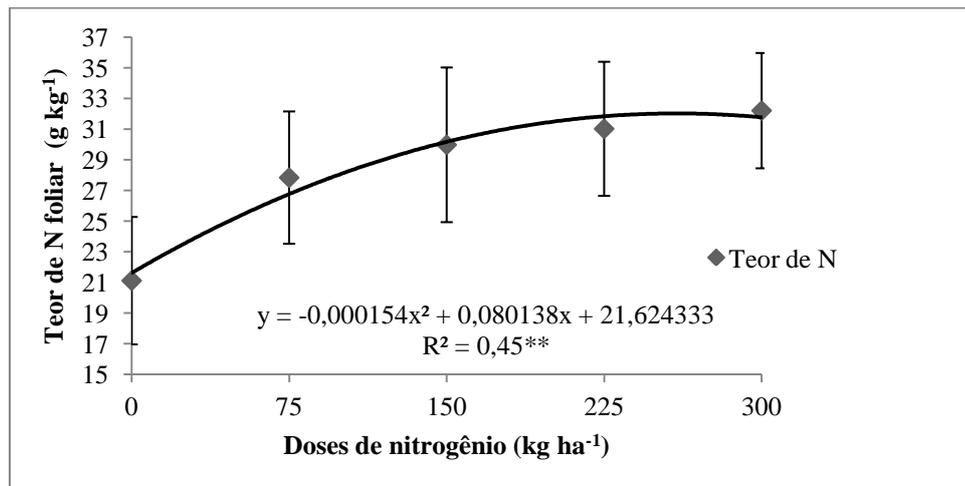


Figura 5. Teor de N foliar em função da adubação nitrogenada na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F. As barras referem-se ao desvio padrão.

Nos resultados obtidos para IAF, mensurado no estágio de florescimento (Figura 6), se observa comportamento quadrático na análise de regressão, com a maior média de área foliar na dose de 211 kg ha⁻¹ de N com IAF de 5,4 m² e a menor média de IAF, se obteve com a ausência de N em cobertura, apresentando IAF de 4,3 m². Após a dose de 211 kg ha⁻¹ de N, nota-se tendência de redução de IAF. Esses resultados mostram a influência do N, para França et al. (2011) o IAF no estágio de florescimento foi de 4,41 m² com 192 kg ha⁻¹ de N.

De acordo com Vargas (2010), o IAF mensurado no florescimento foi influenciado

pela dose de N aplicada em cobertura que maximizaram a área foliar, conseqüentemente, o IAF. O maior teor de N disponibilizado às plantas proporciona maior crescimento e desenvolvimento (SILVA et al., 2005; 2006), aumentando o IAF. Conforme Fancelli (2000), o IAF que determina a taxa máxima de crescimento é conhecido como IAF crítico, o qual varia em função do ambiente que a planta estiver submetida. O IAF crítico para a cultura do milho oscila entre os valores de 3 a 5 m², de acordo com a região, genótipo e sistema de produção considerado.

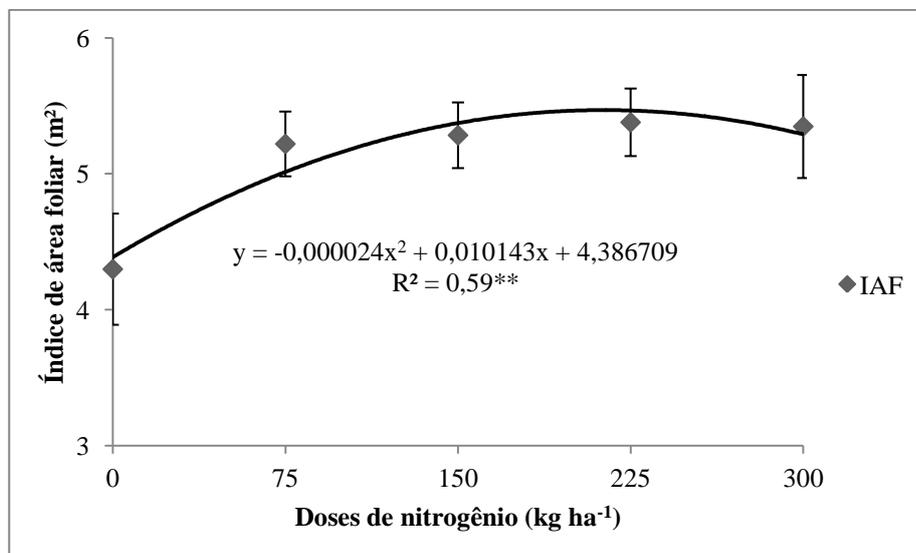


Figura 6. Índice de área foliar (IAF) em função das doses crescentes de N aplicadas na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F. As barras referem-se ao desvio padrão.

Para o número de folhas senescentes no estágio de florescimento (Figura 7) observou-se que no tratamento controle ocorreu o maior número de folhas senescentes, diminuindo, de forma quadrática, com a aplicação das doses de N. Esse resultado se deve ao fato de que a deficiência de N pode reduzir a síntese de clorofila, proteínas e citocinina aumentando a senescência foliar e reduzindo a duração do IAF. Assim, a interceptação luminosa e a fotossíntese, que sob muitas condições dependem da área foliar e sua duração, também serão prejudicadas (JONES, 1985; FRANÇA, 2003). A disponibilidade de N pode afetar o crescimento vegetal através da taxa de expansão foliar e pela taxa de assimilação (TOLLEY e RAPER, 1986 *apud*, FRANÇA, 2003). Lopes et al. (2009) observaram, em sistema de plantio direto, que após 90 e 105 DAE (dias após a emergência) ocorreu queda na fitomassa,

considerando-se o início da senescência. Wolschick et al. (2003) observaram que em plantas que receberam adubação nitrogenada a senescência foliar acelerou a partir dos 90 DAE, quando as plantas estavam no estágio de grão farináceo, sendo que neste estágio os grãos contêm em torno de 70% de água e tem acumulado metade da massa seca, sendo a senescência foliar, a partir deste estágio, um processo natural.

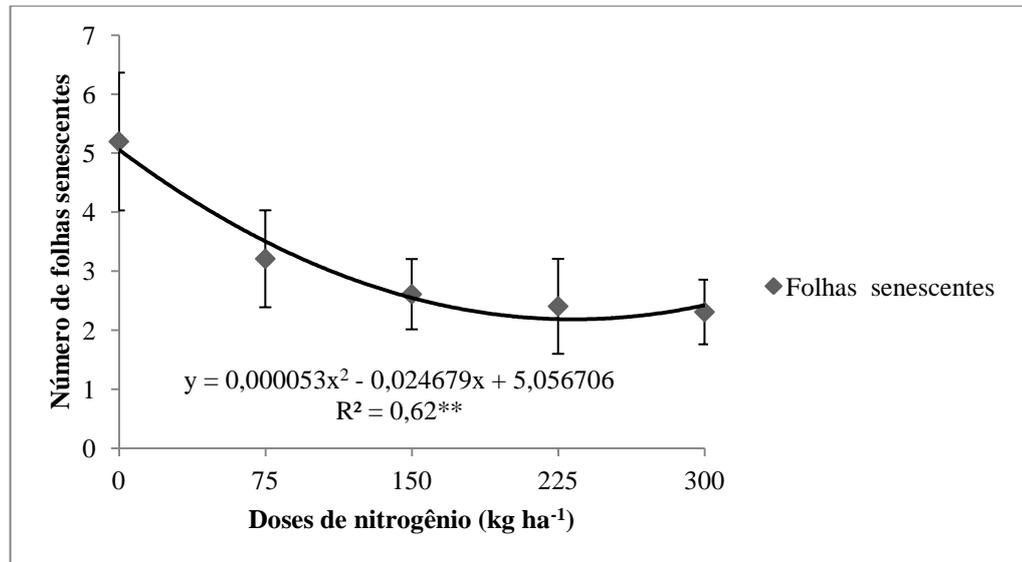


Figura 7. Número de folhas senescentes no estágio de florescimento em relação às doses de N aplicadas na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. As barras referem-se ao desvio padrão.

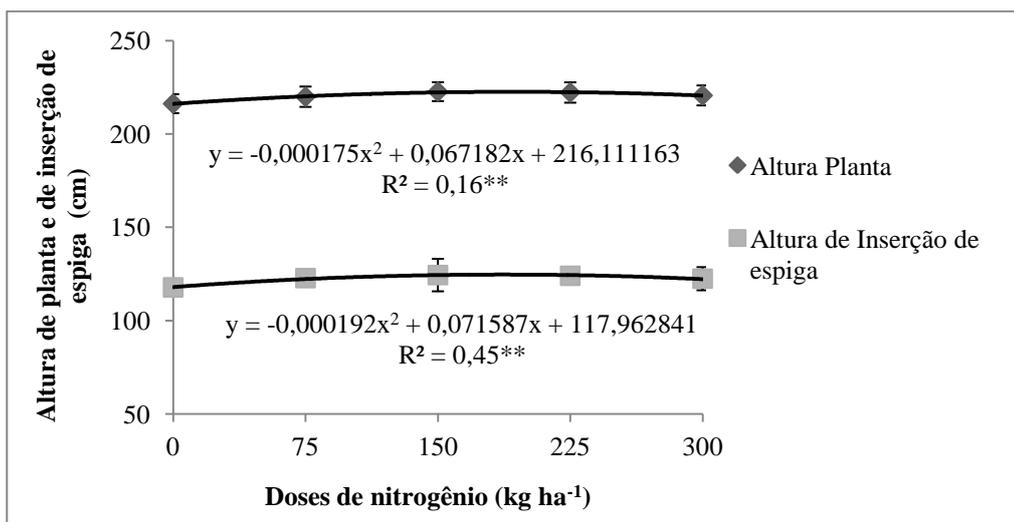


Figura 8. Altura de planta e altura de inserção de espiga de acordo com as doses de N na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

**, * Significativo ao nível de 1 e 5 % de probabilidade pelo teste F, respectivamente. As barras referem-se ao desvio padrão.

Segundo a Figura 8 observa-se que o N influenciou na altura de planta, onde se teve resposta quadrática em função das doses de N aplicadas, com maior altura de planta, obtida na regressão, com a dose de 191 kg ha⁻¹ (229,01 cm), diminuindo a altura nos tratamentos com as maiores doses, 225 e 300 kg ha⁻¹ (222,16 e 220,59 cm, respectivamente), conseqüentemente, a altura de inserção de espiga (Figura 8) também, foi influenciada, obtendo maior altura na dose de 186 kg ha⁻¹ com inserção na altura de, aproximadamente, 124 cm. Entretanto, as maiores alturas de planta e de inserção das espigas poderão predispor à planta ao acamamento ou quebramento, fatores que não ocorreram durante o período de realização do experimento, provavelmente pelo fato do híbrido utilizado não ser suscetível a essas características indesejáveis (ESTEVEZ et al., 1994; MURAKAMI, 2000).

Soares (2003) constatou que a aplicação de N resultou em plantas com maior altura de inserção de espigas, apresentando superioridade de 30% em relação à testemunha. Para Vargas (2010) a estrutura da planta respondeu de forma quadrática ao incremento da dose de N, sendo a dose de 125 kg ha⁻¹ aquela que proporcionou maior estrutura de planta, 261 cm. Contudo, para altura de inserção da espiga o colmo principal não foi alterado em função de nenhum dos fatores. O efeito da adubação nitrogenada sobre os componentes de rendimento da cultura do milho já foram descritos por outros autores (SANGOI, 2007; MELO, 2011).

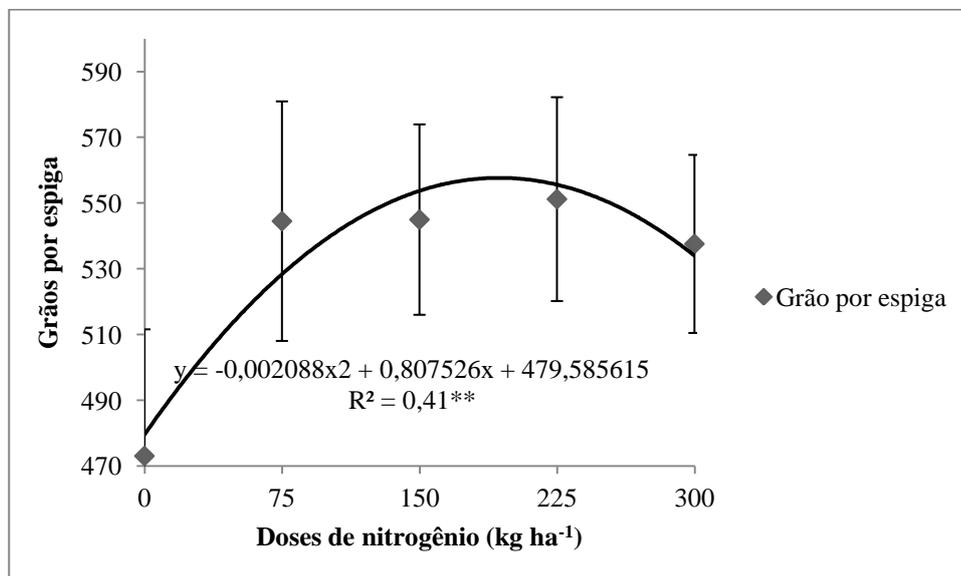


Figura 9. Número de grãos por espiga em relação às doses de N na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.
** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F. As barras referem-se ao desvio padrão.

Vitti e Barros Júnior (2001) a cultura do milho necessita de pelo menos 25 kg ha⁻¹ de N na semeadura. Entretanto, analisa-se que a definição do número de fileiras e o tamanho da espiga, características diretamente ligadas à rendimento de grãos de grãos, ocorrem entre a 4^a

e a 12ª folha, manifestando a necessidade da disponibilidade de nutrientes no solo (MEIRA, 2006). Neste experimento, nos resultados obtidos pós-colheita, reparou-se que para o número de grãos por espiga (Figura 9), obteve-se maior proporção de grãos (557) na dose de 193 kg ha⁻¹ de N. Já para o número de grãos por fileira (Figura 10) notou-se que a dose de 211 kg ha⁻¹ de N, foi que melhor respondeu, apresentando 33 grãos por fileira.

Fancelli (1986) relata que o número médio de grãos por fileira é afetado pelo tamanho da espiga, o qual é definido, principalmente, no período em que as plantas apresentam doze folhas completamente expandidas (estádio R2). Fancelli e Dourado Neto (2000) relatam que o comprimento máximo está relacionado com a disponibilidade de água e nutrientes, principalmente, de N. Bortolini et al. (2000), avaliando diferentes doses e épocas de aplicação de N, também verificaram que o número de grãos por espiga foi o componente mais associado ao rendimento de grãos. Tomazela et al. (2006) constataram que o fornecimento de 200 kg ha⁻¹ de N aumentou a quantidade de grãos por fileira.

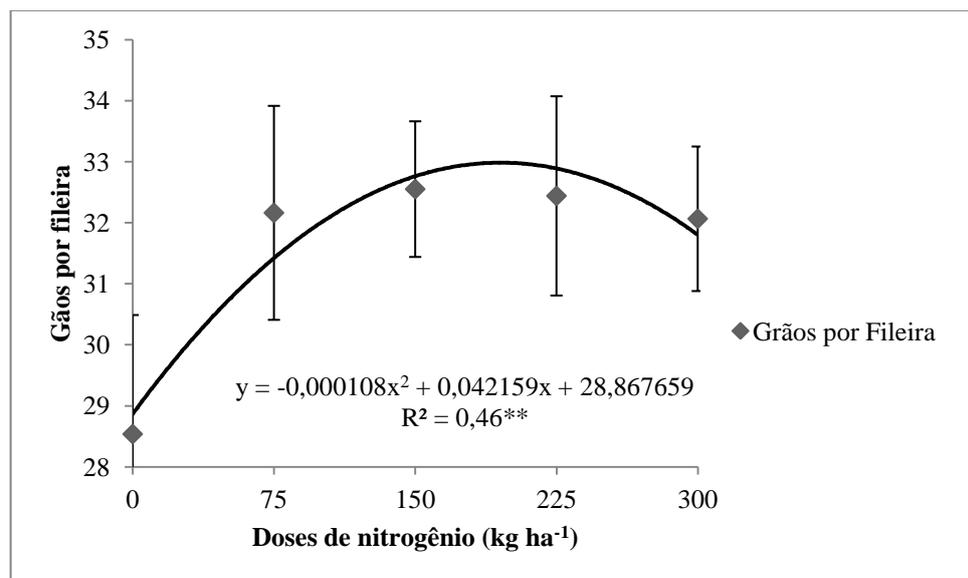


Figura 10. Número de grãos por fileira em relação às doses de N na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.
 **, * Significativo ao nível de 1 e 5 % de probabilidade pelo teste F, respectivamente. As barras referem-se ao desvio padrão.

Fancelli e Dourado Neto (1997) citam que o rendimento de grãos também depende do número de fileiras de grãos por espiga, massa de grãos, prolificidade (número de espigas por planta) e população de plantas. Na Figura 11 observa-se que o menor rendimento de grãos foi tratamento controle apresentando 8.660 kg ha⁻¹ e o maior rendimento se obteve com 210 kg ha⁻¹ de N apresentando rendimento de 12.053 kg ha⁻¹, incremento de 3.393 kg ha⁻¹. Nas

condições deste experimento pode-se observar que a máxima eficiência econômica (MEE) seria obtida com $91,52 \text{ kg ha}^{-1}$ de N. Os resultados encontrados neste experimento corroboram com os encontrados por Sandini et al. (2011) na produção de milho, no sistema de integração lavoura pecuária, onde com a aplicação de 285, 271, 216 e 240 kg ha^{-1} de N no verão, seriam obtidas os máximos rendimentos de milho de 13.081, 13.009, 13.185 e $13.202 \text{ kg ha}^{-1}$, respectivamente. Silva (2002) observou que a dose de 110 kg ha^{-1} de N proporcionou o máximo rendimento de grãos (6000 kg ha^{-1}). Já Soares (2003) com a aplicação de N obteve o máximo rendimento de grãos (9182 kg ha^{-1}) com a dose de $202,6 \text{ kg ha}^{-1}$ de N.

Rambo et al. (2008) verificaram relação entre as doses crescentes de N com os valores do rendimento de grãos, podendo verificar que a mesma foi afetada até a dose de 160 kg ha^{-1} de N, incremento de 1855 kg ha^{-1} . Silva et al. (2010) obtiveram o maior rendimento de grãos com 200 kg ha^{-1} de N obtendo 5467 kg ha^{-1} , incremento de $2953,4 \text{ kg ha}^{-1}$. Para Moraes (2012) o maior incremento foi obtido na dose de 300 kg ha^{-1} de N, com rendimento superior a testemunha de 290 kg ha^{-1} . Esses resultados são semelhantes aos encontrados neste experimento, onde se obteve incremento crescente, no rendimento de grãos, com as diferentes aplicações das doses da adubação nitrogenada.

Desse modo, observa-se que a deficiência de nitrogênio reduz a densidade de grãos entre 9 e 25% e o rendimento de grãos, entre 14 e 80%, porque esse elemento, além de afetar a determinação do número de células endospermáticas e de grânulos de amido pode reduzir a fonte de fotoassimilados, devido à redução do índice e duração de área foliar (NEHMI et al., 2004) Na Tabela 3 são apresentados os índices de correlação linear entre as variáveis analisadas, observando-se a média correlação linear entre o rendimento de grãos e o teor relativo de clorofila. Yamada (1996) ressalta que para o rendimento esperado de 10 toneladas de grãos por hectare deve-se aplicar entre 150 e 200 kg ha^{-1} de N.

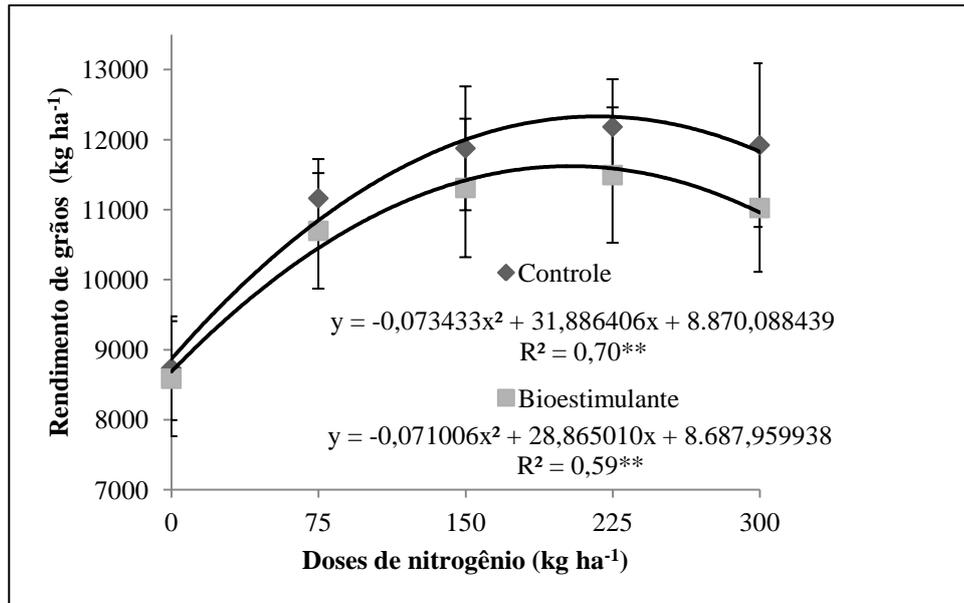


Figura 11. Rendimento de grãos em função das doses crescentes de N na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

**,* Significativo ao nível de 1 e 5 % de probabilidade pelo teste F, respectivamente. As barras referem-se ao desvio padrão.

Tabela 3. Correlação linear entre as variáveis analisadas. 0 - 0,75 indica fraca correlação linear; 0,75-0,90 indica média correlação linear e 0,90-1,00 indica forte correlação linear (GOMES 1990). Guarapuava, PR, 2013.

Variáveis	CI a	CI b	CI total	Rendimento de grãos	Umidade	MMG	População	Índices	Ardido	Altura Planta	Altura Inserção	Fileiras por espiga	Grãos por fileira	Grão por espiga	Folhas Senescente	IAF	Total de Folhas	Teor de N foliar	
	%	%	%	kg ha ⁻¹	%	g	pls ha ⁻¹	espiga planta ⁻¹	%										
CI a	1,00																		
CI b	0,72	1,00																	
CI total	0,94	0,91	1,00																
Rendimento de grãos	0,63	0,75	0,73	1,00															
Umidade	0,15	-0,16	0,01	-0,10	1,00														
MMG	0,37	0,27	0,35	0,39	-0,01	1,00													
População	0,11	0,11	0,12	0,07	0,00	0,01	1,00												
Índices	0,07	0,08	0,08	-0,01	0,00	0,10	-0,34	1,00											
Ardido	0,16	0,13	0,16	0,17	0,08	0,04	0,07	-0,03	1,00										
Plantas quebradas	0,05	0,23	0,14	0,15	-0,17	0,04	-0,10	-0,13	-0,05										
Altura Planta	0,44	0,48	0,49	0,54	0,09	0,13	0,02	0,11	0,05	1,00									
Altura Inserção	0,25	0,36	0,32	0,48	0,06	0,08	0,00	-0,01	0,06	0,55	1,00								
Fileiras por espiga	0,17	0,25	0,22	0,14	-0,02	-0,04	-0,07	0,05	0,04	0,17	0,02	1,00							
Grãos por fileira	0,38	0,55	0,49	0,61	-0,10	0,08	0,01	-0,10	0,13	0,25	0,26	0,15	1,00						
Grão por espiga	0,38	0,56	0,50	0,56	-0,10	0,04	-0,02	-0,07	0,13	0,28	0,22	0,57	0,90	1,00					
Folhas Senescente	-0,54	-0,74	-0,68	-0,73	0,17	-0,22	-0,09	0,01	-0,08	-0,36	-0,31	-0,18	-0,63	-0,60	1,00				
IAF	0,38	0,66	0,55	0,70	-0,23	0,07	0,08	-0,10	0,16	0,34	0,38	0,12	0,65	0,59	-0,74	1,00			
Total de Folhas	-0,13	-0,11	-0,13	-0,09	-0,06	-0,07	0,00	0,13	0,00	-0,09	0,07	-0,01	-0,13	-0,11	0,42	-0,01	1,00		
Teor de N foliar	0,27	0,57	0,44	0,44	-0,22	0,05	0,10	-0,01	0,03	0,16	0,19	0,10	0,50	0,46	-0,58	0,50	-0,15	1,00	

6.4 CONCLUSÃO

O teor de clorofila, teor de N foliar, IAF, número de folhas senescentes no florescimento, altura de planta, altura de inserção de espiga, número de grãos por fileira, número de grãos por espiga e a rendimento de grãos são influenciadas diretamente pelos diferentes níveis da adubação nitrogenada, sendo a máxima eficiência técnica alcançada com a dose de 210 kg ha⁻¹ de N que apresentou o maior rendimento de grãos, de 12.053 kg ha⁻¹. Entretanto, a utilização do bioestimulante não se mostra viável para a cultura do milho, reduzindo o rendimento de grãos, desta forma tornam-se necessários outros estudos sobre a eficiência desta tecnologia.

6.5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- AMADO, T. J.; MIELNICZUK, J.; AITA, C.. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, RS, v.26, p.241-248, jul, 2002.
- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F. da; SANGOI, L. Leaf relative chlorophyll content as an indicator parameter to predict nitrogen fertilization in maize. **Ciência Rural**, v.34, p.1379-1387, 2004.
- ARATANI, R.G.; FERNANDES, F.M.; MELLO, L.M.M de.. Adubação nitrogenada de cobertura na cultura do milho irrigado, em sistema de plantio direto. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**. Publicação científica da faculdade de agronomia e engenharia florestal de Garça/FAEF, ano V, número, 09, junho de 2006.
- BORTOLINI, C.G. et al. Adubação nitrogenada em pré-semeadura e seus efeitos sobre o rendimento do milho em sucessão a aveia preta. CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 23, **Resumos...**Uberlândia: 2000. p.250.
- BREDEMEIER, C. **Predição da necessidade de nitrogênio em cobertura em trigo e aveia**. 1999. 101p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- CARVALHO, N.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4 ed. Jaboticabal: **FUNEP**, 2000. 588p.
- CASTRO, P.R.C., PACHECO, A.C., MEDINA, C.L. Efeitos de Stimulate e de micro-citros no desenvolvimento vegetativo e na rendimento de grãos da laranjeira `pêra' (Citrus sinensis l. osbeck). **Scientia Agrícola**, v.55, n.2, p.338-341. 1998.

CAVALLET, L.E.; PESSOA, A.C.S.; HELMICH, J.J. et al. Rendimento de grãos do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.1, p.129-132, 2000.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320 p.

COELHO, A.M.; FRANÇA, G.C.; BAHIA, A.F.C. & GUEDES, G.A. Doses e métodos de aplicação de fertilizantes nitrogenados na cultura do milho sob irrigação. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, 16:61-67, 1992.

DOBBELAERE, S.; OKON, Y. The plant growth-promoting effect and plant responses. In “Associative and Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations” (Elmerich, C.; Newton, W.E. eds.), p. 145-170. **Springer, Dordrecht, The Netherlands**. 2007.

DOURADO NETO, D.; DARIO, G.J. A.; MARTIN, T. N.; BARBOSA, D. K.; MOCHINSKI, A. Influência de fitoregulador no crescimento do milho. **I Seminário Sistemas de Produção Agropecuária. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR - Campus Dois Vizinhos, PR, out., 2007.**

DOURADO NETO, D.; DARIO, G. J. A.; VIEIRA JUNIOR, P. A.; MANFRON, P. A., MARTIN, T. N.; BONNECARRÉRE, R. A. G.; CRESPO, P. E. N. Aplicação e influência do fitoregulador no crescimento das plantas de milho. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, RS, v.11, n.1, p. 1-9. 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: 2006b. 306p.

ESTEVES, A.; CORRÊA, L.A.; ARAÚJO, N.B. Avaliação de cultivares de milho (*Zea mays* L.) de ciclo superprecoce, na entressafra. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 20., 1994, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: ABMS/EMGOPA/CNPMS-EMBRAPA/UFV/EMATER-GO, 1994. p.38.

FALKER AUTOMAÇÃO AGRÍCOLA Ltda. Manual do medidor eletrônico de clorofila (ClorofiLOG/ CFL 1030). Porto Alegre: **Falker Automação Agrícola**, 2008. 33p.

FANCELLI, A. L. **Plantas alimentícias: guia para aula, estudos e discussão**. Piracicaba: ESALQ, 1986.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. Fenologia do milho. In: **Tecnologia da produção de milho**. Piracicaba: Publique, 1997. p. 131-134.

FANCELLI, A.L. Fisiologia, nutrição e adubação do milho para alto rendimento. In: **SIMPÓSIO ROTAÇÃO SOJA/MILHO NO PLANTIO DIRETO**,1. Piracicaba, SP: POTAPHOS, 2000.

FANCELLI, A.L.. Estudo do uso de biorreguladores no tratamento de sementes e em

pulverizações foliares e sua influência no desempenho e rendimento de grãos das culturas de milho e feijão. **Relatório de pesquisa** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Departamento de Produção Vegetal, 2005.

FANCELLI, A.L.. Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes na cultura de milho. **IPNI. Informações Agronômicas**, n. 131. Piracicaba, SP, 2010. 24p.

FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D. Produção de milho. Guaíba: **Agropecuária**, 2000. 360p.

FERREIRA, L. A.; OLIVEIRA, J. A.; PINHO, É. V. de R. V.; QUEIROZ, D. L. de. Bioestimulante e Fertilizante Associados ao Tratamento de Sementes de Milho. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 29, nº 2, 2007, p.80-89.

FRANÇA, S. **Efeito da disponibilidade de nitrogênio e água na fotossíntese, crescimento e produção do milho, em diferentes sistemas de cultura. Tese de Doutorado em Fitotecnia, Área de concentração Agrometeorologia** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS, fev. 2003.

FRANÇA, S; MIELNICZUK, J.; ROSA, M. G.; BERGAMASCHI, H.; BERGONCI, J. I. Nitrogênio disponível ao milho: crescimento, absorção e rendimento de grãos. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**. vol.15 no.11 Campina Grande. Nov. 2011.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba:Nobel, 1990. 468p.

GROVE, L.T.; RICHET, K.D. & MADERMAN, G.C. Nitrogen fertilization of maize on oxisol of the cerrado of Brazil. *Agron. J.*, 27:261-265, 1980.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ - IAPAR. **Cartas climáticas do Paraná**. Online. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=863>>. Acesso em: 28 set. 2012.

KAPPES, C.; CARVALHO, M.A.C DE.; YAMASHITA, O.M.; SILVA, J.A.N.da.. Influência do nitrogênio no desempenho produtivo do milho cultivado na segunda safra em sucessão à soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, GO, v. 39, n. 3, p. 251-259, 2009.

LOPES, J. P.; MACHADO, E. C.; DEUBER, R.; MACHADO, R. S. Análise de crescimento e trocas gasosas na cultura de milho em plantio direto e convencional. **Bragantia**, v.68, p.839-848, 2009.

LUDFORD, P. L. Postharvest hormone changes in vegetables and fruits. In: DAVIES, P. J. (Ed.). **Plant hormones. The Netherlands: Kluwer Academic**, 1995. p. 725–750.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Ed. 2. Piracicaba: **Potafos**, 1997. 319p.

MEIRA, F. de A., **Fontes e modos de aplicação do nitrogênio na cultura do milho**. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia, Área de concentração: Sistemas de Produção. Ilha

Solteira, SP, dez., 2006.

MELO, F. de B.; CORÁ, J. R.; MILTON, J. Fertilização nitrogenada, densidade de plantas e rendimento de milho cultivado no sistema plantio direto. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 27-31, 2011.

MENGEL, D.B.; BARBER, S.A. Rate of nutrient uptake per unit of corn root under field conditions. **Agronomy Journal**, 66:399-402, 1974.

MORAIS, T.P. de. **Adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense* em híbridos de milho**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Agronomia, Área de Concentração: Fitotecnia, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG, 2012.

MURAKAMI, D.M. Comportamento de alguns híbridos comerciais de milho (*Zea mays* L.) na Região Sul do Estado de Mato Grosso, safra 1997. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 23., 2000, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: ABMS/EMBRAPA MILHO SORGO/UFU, 2000. p.108.

NHEMI, I.M.D.; FERRAZ, J.V.; NHEMI FILHO, V.A., SILVA, M.L.M. Milho: a diferença aparece no manejo. In: Agriannual 2004: **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: Argos, 2004. p.377 – 378. (Agriannual, 2004).

PIONEER. Efeitos do nitrogênio: doses. **Revista Área Polo**, São Paulo, v. 5, n. 11, p. 12-6, 1995.

RAMBO, L.; SILVA, P.R.F.da.; STRIEDER, M.L.; DELATORRE, C.A.; BAYER, C.; ARGENTA, G. Adequação de doses de nitrogênio em milho com base em indicadores de solo e de planta. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, Brasília, v.43, n.3, p.401-409, mar. 2008.

RAMBO, L.; SILVA, P.R.F.; ARGENTA, G.; SANGOI, L. Parâmetros de plantas para aprimorar o manejo da adubação nitrogenada de cobertura em milho. **Ciência Rural**, v.34, p.1637-1645, 2004.

SANDINI, I.E.; MORAES, A. DE.; PELISSARI, A.; NEUMANN, M.; FALBO, M.K.; NOVAKOWISKI, J.H.. Efeito residual do nitrogênio na cultura do milho no sistema de produção integração lavoura-pecuária. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v.41, n.8, p.1315-1322, 2011.

SANGOI, L.; ERNANI, P. R.; SILVA, P. R. F. da. Maize response to nitrogen fertilization timing in two tillage systems in a soil with high organic matter. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 31, n. 3, p.507-517, 2007.

SCHREIBER, H.A.; STANBERRY, C.O.; TUCKER, H. Irrigation and nitrogen effects on sweet corn row number at various growth stages. **Science**, 135:135-136, 1988.

SCHRÖDER, J.J.; NEETESON, J.J.; OENEMA, O. & STRUIK, P.C. Does the crop or the soil indicate how to save nitrogen in maize production? Reviewing the state of the art. **Field**

Crop Research, 66:151-154, 2000.

SILVA, P. S. L.; SILVA, P. I. B.. Efeitos de épocas de aplicação de nitrogênio no rendimento de grãos do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 8, p. 1057-1064, 2002.

SILVA, E.C.; Ferreira, S. M.; Silva, G. P.; Assis, R. L. de; Guimarães, G. L. Épocas e formas de aplicação de nitrogênio no milho sob plantio direto em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v.29, p.725-733, 2005.

SILVA, E.C.; MURAOKA,T; GUIMARÃES,G. L.; BUZETT, S. Acúmulo de nutrientes em plantas de cobertura e no milho cultivado em sucessão sob diferentes doses de nitrogênio em plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 5, p.202-217, 2006.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

SILVA,M.B.P.da.; SOUZA, J.L.de.; LYRA, G.B.; LYRA, G.B.; TEODORO, I.; ROCHA, A. E. Q. da.; SILVA, M. da.; BRITO, K. S.. **Radiação Fotossinteticamente Ativa Interceptada em Cultivo de Milho sob Diferentes Doses de Nitrogênio**. 2010. Disponível em: <http://www.cbmet2010.com/anais/artigos/364_57281.pdf> Acessado em: 12 de nov. 2012.

SINGH, B.; SINGH, Y.; LADHA, J.K.; BRONSON, K.F.; BALASUBRAMANIAN, V.; SINGH, J.; KHIND, C.S. Chlorophyll meter and leaf color chart based nitrogen management for rice and wheat in Northwestern India. **Agronomy Journal**, v.94, p.821-829, 2002.

SOARES, M. A. **Influência de nitrogênio, zinco e boro e de suas respectivas interações no desempenho da cultura de milho (Zea mays L.)**. 2003. 92 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)– Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Piracicaba, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E..Plant physiology. Trad. SANTARÉM, E. R., et al. 3.ed, Porto Alegre: Artmed, 2004. 722p.

TOMAZELA, A.L.; FAVARIN, J.L.; FANCELLI, A.L.; MARTIN, T.N.; DOURADO NETO, D.; REIS, A.R. dos. Doses de nitrogênio e fontes de Cu e Mn suplementar sobre a severidade da ferrugem e atributos morfológicos do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.5, n.2, p.192-201, 2006

VARGAS, V. P. **Manejo da adubação nitrogenada na recuperação de estresses em milho**. (Dissertação de Mestrado – Centro de Ciências Agroveterinárias – Universidade Estadual de Santa Catarina. Área de concentração: Ciência do Solo.). Lages, SC. 2010

VARVEL, G.E.; SCHPERS, J.S.; FRANCIS, D.D. Ability for in-season correction of nitrogen deficiency in corn using chlorophyll meters. **Soil Science Society of America Journal**, 61:1233-1239, 1997.

VIEIRA JR, P.A.. MILHO. In: CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R. A. Ecofisiologia de cultivos anuais. 1. ed. rev. São Paulo: Nobel, 1999. p. 41-71.

VITTI, G.C.; BARROS JÚNIOR, M.C. Diagnóstico da fertilidade do solo e adubação para alta rendimento de grãos de milho. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Milho: tecnologia e rendimento de grãos**. Piracicaba: ESALQ/LPV, 2001. p.179-222.

VORPAGEL, A.G.. **Inoculação de *Azospirillum*, isolado e associado a bioestimulante, em milho, no noroeste do RS**. (Trabalho de conclusão de curso – Curso de Agronomia – Departamento de Estudos Agrários da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – UNIJUÍ). Ijuí, RS, jul., 2010.

WANDERLEY FILHO, H. C. de L. **Uso de bioestimulantes e enraizadores no crescimento inicial e tolerância à seca em cana-de-açúcar**. (Dissertação de Mestrado – Pós Graduação em Produção Vegetal. Universidade Federal de Alagoas). Rio Largo, AL, 2011.

WOLSCHICK, D.; CARLESSO, R.; PETRY, M. T; JADOSKI, S. O. Adubação nitrogenada na cultura do milho no sistema plantio direto em ano com precipitação pluvial normal e com "El Niño". *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.27, p.461-468, 2003.

YAMADA, T. Adubação nitrogenada do milho. Quanto, como e quando aplicar? *Informações Agronômicas*, Piracicaba: **Potafos**, n.74, p.1-5, 1996.

7. CAPÍTULO 2 – DOSES DE NITROGÊNIO ASSOCIADOS AO EFEITO DA INOCULAÇÃO DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* NA CULTURA DO MILHO

DOSES OF NITROGEN AND *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* INOCULATION IN CORN CROP

RESUMO

O N é o nutriente que mais limita a expressão do potencial da cultura do milho e, também, o nutriente que mais onera custos, desta forma, avanços tecnológicos tem surgido com a finalidade de reduzir o custo de produção e aumentar os rendimentos, como o estudo da inoculação de *A. brasilense* a fim de suprir parte do N requerido pela cultura. Com o objetivo de testar o efeito de níveis crescentes de N associadas à inoculação de *A. brasilense*, aplicado no TS e no sulco de semeadura, o experimento foi conduzido no município de Guarapuava, PR, no ano agrícola de 2011. Os tratamentos foram dispostos em delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 3x5, constituídos de inoculação de *A. brasilense* x níveis de adubação nitrogenada (0, 75, 150, 225, 300 kg ha⁻¹ de N), com oito repetições, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey (5%). Houve interação significativa para índice de área foliar e número de folhas senescente no florescimento, tanto a inoculação da bactéria, via TS e no sulco de semeadura, proporcionaram incrementos no rendimento de grãos, altura de planta e altura de inserção de espiga, enquanto o teor de clorofilas *a*, *b* e *total*, altura de planta, altura de inserção da espiga, número de fileiras por espiga, número de grãos por espiga e rendimento de grãos foram afetadas pelos níveis de adubação nitrogenada. Assim, conclui-se que a inoculação no sulco de semeadura com *A. brasilense* proporcionou o maior rendimento de milho e as aplicações das doses de N influenciaram positivamente, com resposta quadrática e máxima resposta, de 11589 kg ha⁻¹ com 202 kg ha⁻¹ de N, incrementando o desempenho produtivo da cultura do milho.

Palavras-chave: adubação nitrogenada, bactéria diazotrófica, rendimento de grãos.

ABSTRACT

Nitrogen is the nutrient that most limits the expression of production potential of corn crop and it is also the nutrient that most increase the production costs. Based on it, technological advances have emerged with goal of reducing the costs and increasing the yields. An example of these technologies is the inoculation with diazotrophic bacteria *Azospirillum brasilense* that could supply, at least partly, the N required by corn plants. Then, an experiment was carried out in Guarapuava, Paraná, Brazil in 2011 to evaluating the effect of nitrogen doses associated with *A. brasilense* inoculation in seed treatment and seeding furrow. The experimental design was complete randomized blocks with factorial arrangement 3x5, inoculation x nitrogen doses (0, 75, 150, 225, 300 kg ha⁻¹ of N), and eight replications. There was significant interaction to leaf area index and number of senescent leaves at flowering. Both inoculation methods, seed treatments and seeding furrow, had increase in corn yield, plant height and leaf insertion height. Chlorophyll a, b and total content, plant height, leaf insertion height, number of rows per leaf, number of kernels per leaf and corn yield had effect of nitrogen fertilization. Thus, based on these results the *A. brasilense* inoculation in seeding furrow provided higher yield and the nitrogen doses influenced positively, with quadratic response of 11589 kg ha⁻¹ with 202 kg ha⁻¹ of N, incremented in the yield performance of corn crop.

Keywords: nitrogen fertilization, diazotrophic bacteria, corn yield.

7.1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos foi descoberto o potencial das bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum*, fixadoras de N atmosférico em vida livre (BODDEY et al., 1995) e quando associadas à rizosfera das plantas podem auxiliar na disponibilidade de N (BÁRBARO et al., 2008).

O N é o nutriente que mais onera o custo na produção final do milho, assim, os benefícios com a fixação biológica de N (FBN) são tanto econômicos como ambientais (CASTELLEN, 2005). Desse modo, o manejo adequado do fertilizante nitrogenado associado à inoculação com *Azospirillum* na cultura do milho poderá resultar em incrementos de rendimento e redução de custos da cultura (VORPAGEL, 2010).

A eficiência da bactéria *Azospirillum* spp. no desenvolvimento da planta de milho e de outras gramíneas tem sido pesquisado não somente quanto ao rendimento das culturas, mas, também, pelas causas fisiológicas que, possivelmente, influenciam no rendimento (BÁRBARO et al., 2008). Com destaque para a produção de substâncias promotoras de crescimento como o ácido indolilacético (IAA), giberelinas e citocininas, que atuam na morfologia e fisiologia, promovendo aumento de peso radicular na eficiência da exploração do solo, na captação de água e nutrientes (PERIN et al., 2003).

A inoculação de *A. brasilense* é realizada com aplicação nas sementes com inoculantes que podem ser aplicados via sólida (como turfa) ou via líquida (HUNGRIA, 2011). A forma de inoculação mais utilizada é através do tratamento de sementes, contudo estudos realizados em outras culturas mostram que há efeito positivo quando se aplica o inoculante no sulco de semeadura (RAMOS e RIBEIRO, 1993).

Entretanto, somente parte do N requerido pela cultura do milho é fornecida pela bactéria *Azospirillum* spp. sendo necessária a complementação da adubação de N, por apresentar grande importância devido ao N ser um dos nutrientes mais relevantes no aumento do rendimento (FERNANDES et al., 2008). A assimilação de N é um processo vital à cultura do milho, pois controla o crescimento e o desenvolvimento das plantas e tem efeitos marcantes sobre a fitomassa e a rendimento de grãos final. Vários trabalhos mostram os efeitos positivos deste nutriente no rendimento de grãos de milho (AMADO et al., 2002).

A absorção de N ocorre durante todo o ciclo vegetativo do milho e, apesar das exigências nutricionais serem menores nos estádios iniciais de crescimento, pesquisas indicam que altas concentrações de N na zona radicular são benéficas para promover o rápido crescimento inicial da planta e o aumento do rendimento de grãos (YAMADA, 1996; VARVEL et al., 1997). O método de adubação nitrogenada tradicionalmente recomendado preconiza a aplicação de parte da dose de N na semeadura e o restante quando a planta apresenta de quatro a oito folhas expandidas (SÁ, 1996).

A partir destas considerações, objetivou-se testar o efeito de níveis de adubação nitrogenada associadas à inoculação de *A. brasilense*, aplicado no tratamento de sementes e no sulco de semeadura da cultura de milho.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido a campo, nas condições de plantio direto, no município de Guarapuava, PR (ANEXO I). A área experimental localiza-se a 25°33' latitude Sul e 51°29' longitude Oeste e tem altitude de aproximadamente 1100m, a topografia do local é considerada plana. O solo classifica-se como Latossolo Bruno Distroférico Típico, de fertilidade média a alta (ANEXO III).

Os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* foram via TS (100 mL ha⁻¹), sulco de semeadura (300 mL ha⁻¹) e controle. A inoculação foi realizada com o produto comercial “Masterfix L. Gramíneas®”, à base de *Azospirillum brasilense* (estirpes abv5 e abv6) associado a cinco doses de nitrogênio (0; 75; 150; 225; 300 kg ha⁻¹) da fonte uréia (46% de N), com parcelamento das doses nos estádio V2 e V5, conforme escala proposta por RITCHIE et al. (1993), totalizando 15 tratamentos. O delineamento utilizado foi blocos ao acaso em arranjo fatorial 3x5, com três formas de inoculação de *A. brasilense* x cinco níveis de adubação nitrogenada e oito repetições sendo as parcelas constituídas de quatro linhas com sete metros de comprimento espaçadas em 0,60 m, com espaçamento de 0,16 m entre plantas, totalizando população de 80 mil plantas por hectare.

A semeadura manual foi realizada em 03/10/2011 utilizando sementes de milho da empresa Pioneer® (híbrido 30F53HRR). Os tratamentos com inoculação receberam 100 mL ha⁻¹ no TS e no sulco de semeadura 300 mL ha⁻¹ de Masterfix L. Gramíneas®. No manejo da adubação aplicou-se 350 kg ha⁻¹ da fórmula, N-P-K, 12-31-17 + 0,4% de Zn. O manejo quanto a plantas invasoras foi realizado com Mesotriona (p.c. Callisto®) e Atrazina (1,65 g ha⁻¹ de i.a.). Quanto ao controle cultural aplicou-se o fungicida Opera® (p.a. piraclostrobina) na dose de 0,75 L ha⁻¹. As pulverizações foram realizadas utilizando pulverizador costal contendo pontas de pulverização de jato leve (leque), espaçadas em 0,50 m uma da outra, sendo utilizada pressão de trabalho de 30 lb pol⁻², com volume de calda de 200 L ha⁻¹.

No dia 28/12/2011 as plantas se encontravam no estádio R1 (florescimento) e após este evento, realizou-se a leitura do teor de clorofila da folha índice (folha abaixo da inserção da espiga), pelo método SPAD (unidade de medida em índice adimensional), com o auxílio do determinador de clorofila ClorofiLog (Falker); essa avaliação foi realizada em cinco plantas escolhidas aleatoriamente na segunda e terceira linha de cada parcela. Também, foi realizada a avaliação do índice de área foliar (IAF), medindo o comprimento e a largura de todas as

folhas (com mais de 50% de área verde), de três plantas, na segunda linha de cada parcela, realizou-se a contagem das folhas senescentes (com menos de 50% de área verde). Ainda, neste mesmo estágio, foram coletadas cinco folhas índice, para a avaliação do nível de nitrogênio (SILVA, 2009).

Em pré-colheita mediu-se a altura de planta, tomando como base a distância, da superfície do solo até a inserção da folha bandeira e para altura de inserção das espigas a distância entre o solo até o nó de inserção da espiga superior. Com a contagem de plantas e espigas da linha colhida obteve-se o índice de espigamento. No dia 24/03/2012 foi realizada a colheita e como área útil, para estimativa da produção, tomou-se a terceira linha eliminando 0,5 m nas extremidades, colhendo as espigas das 24 plantas da linha, de cada parcela. De seis espigas foram realizadas a contagem de fileiras por espiga, grãos por fileira e, assim, determinada a proporção de grãos por espiga. Posteriormente, todas as espigas foram trilhadas, para determinação dos dados de produção. Com o peso de 300 sementes estimou-se o peso de mil grãos e com a amostra de 250 g foi realizada a análise de grão ardido. A umidade foi corrigida para 13% e, em seguida, o valor foi convertido para kg ha^{-1} para a determinação da rendimento de grãos final.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico SISVAR. Os dados de grãos ardidos foram transformados em $\sqrt{Y} + 1$. Quando as regressões foram significativas foi selecionado o modelo matemático que melhor representasse o comportamento da variável utilizando a planilha eletrônica Microsoft Excel. Para as equações quadráticas, estimou-se a dose de N para obter a máxima eficiência técnica (MET) e a máxima eficiência econômica (MEE), baseando-se no preço atual do kg de milho R\$ 0,40 e R\$ 2,73 o kg de N (CONAB, 2013).

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorreu interação significativa entre os tratamentos com inoculação de *A. brasilense* e a adubação de N para folhas senescentes e IAF. A inoculação com *A. brasilense* incrementou o rendimento de grãos, IAF, altura de planta e inserção da espiga. Houve diferença entre os níveis de N para os teores de clorofilas, rendimento de grãos, altura de planta e inserção, grãos por fileira, grãos por espiga, folhas senescentes, teor de N foliar e IAF (Tabela 4).

Tabela 4. Quadrado médio para as variáveis analisadas em plantas de milho com ou sem a inoculação de *A. brasilense* associado a diferentes doses de N. Teores de clorofilas *a*, *b* e *total* (%), rendimento de grãos (kg ha⁻¹), massa de mil grãos (MMG (g)), população de plantas, espigas por planta, grãos ardidos, altura de planta (cm), altura de inserção de espiga (cm), fileiras por espiga, grãos por fileira, grãos por espiga, índice de área foliar (cm²), folhas senescentes no florescimento e total de folhas no florescimento em função da inoculação de *Azospirillum brasilense* e aplicação de bioestimulante na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

Fator de variação	GL	Quadrados Médios					
		Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total	Rendimento de grãos	MMG	População de plantas
Bloco	7	46,87 (0,00) **	4,32 (0,00)**	77,06 (0,00)**	5172873,84 (0,00)**	1912,15 (0,00)**	2206843,97 (0,80)
<i>Azospirillum</i> (A)	2	2,26 (0,21)	1,18 (0,34)	6,59 (0,20)	5009469,21 (0,00)**	162,15 (0,49)	7983780,79 (0,14)
Cobertura (N)	4	38,52 (0,00) **	73,51 (0,00)**	217,09 (0,00)**	40224040,95 (0,00)**	245,74 (0,37)	1960514,25 (0,75)
A x N	8	0,34 (0,98)	0,37 (0,95)	0,86 (0,99)	120179,66 (0,98)	86,22(0,93)	8515245,60 (0,04)*
Erro	98	1,42	1,08	4,01	47684,39	226,22	4029008,64
CV² (%)		3,11	6,95	3,76	6,32	5,28	2,48
Média		38,37	14,93	53,29	10897,97	284,91	81091,43

Continuação Tabela 4.

Fator de variação	GL	Quadrados Médios					
		Espigas por planta	Ardido ¹	Altura		Fileiras por espiga	Grãos por fileira
				Planta	Inserção		
Bloco	7	0,0015(0,15)	0,18 (0,67)	43,70 (0,09)	51,26 (0,10)	0,41 (0,36)	3,95 (0,15)
<i>Azospirillum</i> (A)	2	0,0013(0,25)	0,71 (0,07)	211,95 (0,00)**	85,50 (0,05)*	0,28(0,46)	1,22 (0,61)
Cobertura (N)	4	0,00054 (0,25)	0,44 (0,15)	156,29 (0,00)**	167,75 (0,00)**	0,70 (0,11)	69,07 (0,00)**
A x N	8	0,00053(0,81)	0,13 (0,85)	15,39 (0,74)	23,27 (0,59)	0,40 (0,38)	0,86 (0,95)
Erro	98	0,00094	0,26	24,01	28,51	0,37	2,48
CV² %		2,99	34,03	2,22	4,37	3,61	4,99
Média		1,03	1,49	220,29	122,24	16,8	31,55

Continuação Tabela 4.

Fator de variação	GL	Quadrados Médios				
		Grãos por espiga	Folhas senescentes no florescimento	Índice de área foliar	Total de folhas no florescimento	Teor de N
Bloco	7	1309,95 (0,30)	0,95 (0,15)	0,09 (0,37)	0,38 (0,69)	14,13 (0,65)
<i>Azospirillum</i> (A)	2	1142,35 (0,35)	0,28 (0,63)	0,39 (0,01)**	0,68 (0,30)	37,40 (0,15)
Cobertura (N)	4	25121,54 (0,00)**	34,47 (0,00)**	4,97 (0,00)**	0,30 (0,70)	462,91 (0,00)**
A x N	8	742,09(0,71)	1,34 (0,03)*	0,18 (0,04)*	0,65 (0,32)	12,57(0,74)
Erro	98	1078,23	0,6	0,08	0,56	19,40
CV %		6,19	24,64	5,7	4,67	15,49
Média		530,24	3,15	5,11	15,98	28,43

(1) Variável transformada para $\sqrt{x+1}$. CV= coeficiente de variação.

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 01$) e *significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p > 5\%$).

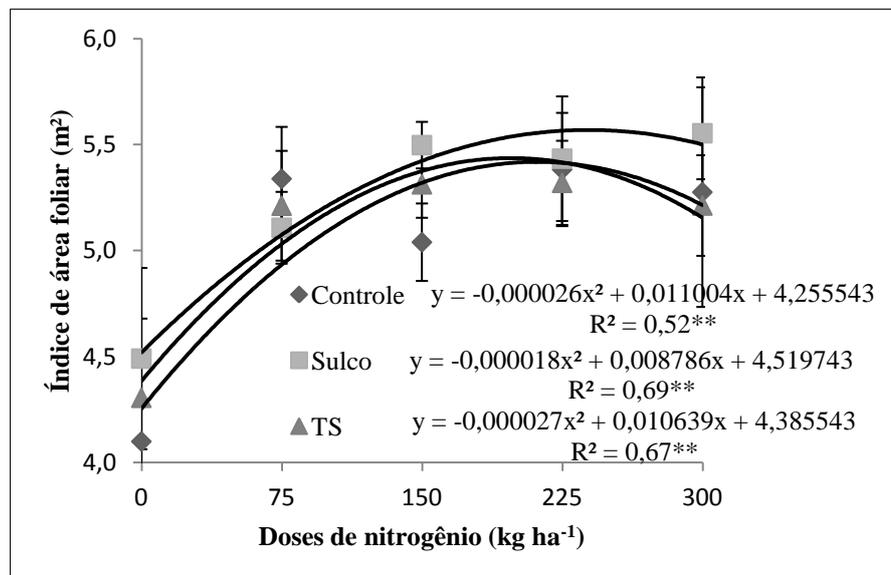


Figura 12. Índice de área foliar com influência da adubação nitrogenada e inoculação de *A. brasilense* na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

**, * Significativo a 1 e 5 % de probabilidade pelo teste F. As barras referem-se ao desvio padrão.

Houve interação, significativa, entre as doses de N aplicadas em associação a *A. brasilense* (Tabela 2) para o IAF. O IAF mensurado na ocasião do florescimento foi crescente conforme a aplicação das doses de N, (Figura 12), apresentando 5,41; 5,59 e 5,43 cm² nas doses de 211; 244 e 197 kg ha⁻¹ de N para os tratamentos controle, sulco de semeadura e TS, respectivamente. O IAF tem a sua importância, devido este índice indicar a característica do dossel e também estar relacionado a outros processos fisiológicos, como a maior taxa fotossintética da planta e, também, na fotossíntese. O rendimento de grãos aumenta

significativamente com os incrementos do IAF, o qual varia de 4 a 6, segundo resultados obtidos no *Corn Belt* americano (FANCELLI, 2010). O IAF permite estimar o grau de desenvolvimento da planta e o potencial de interceptação de energia radiante (FANCELLI, 2000), a fotossíntese, também, depende da área foliar, assim, o rendimento da cultura será maior quanto mais rápido a planta atingir o índice de área foliar máximo e quanto mais tempo à área foliar permanecer ativa (PEREIRA e MACHADO, 1987).

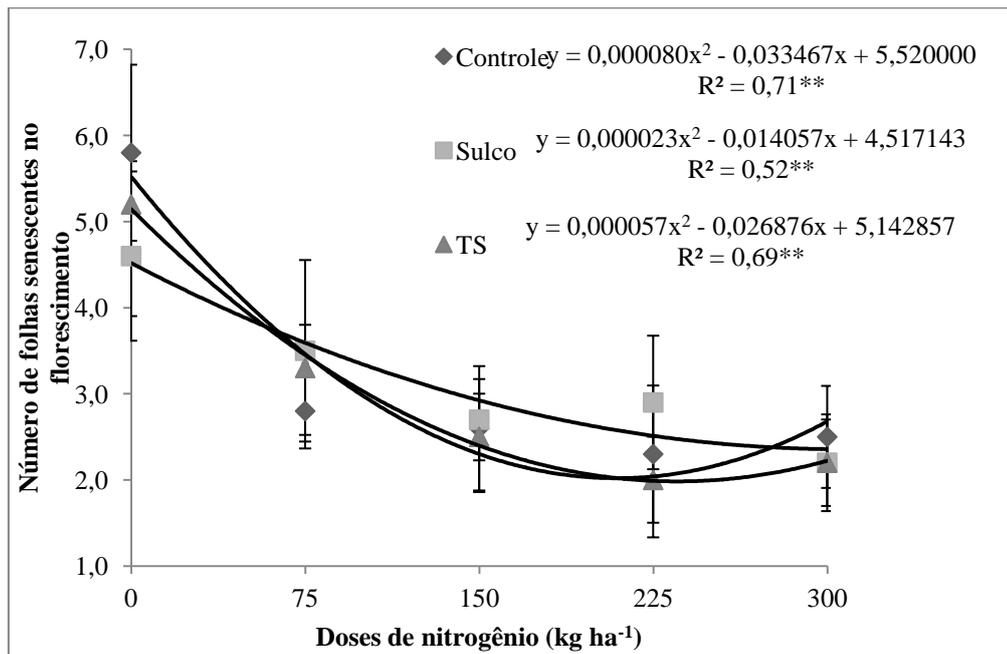


Figura 13. Número de folhas senescentes no florescimento em função da inoculação de *A. brasilense* e os níveis da adubação nitrogenada na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

**, * Significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste F. As barras referem-se ao desvio padrão.

Na apuração do número de folhas senescentes no florescimento (Figura 13), na qual se obteve o maior índice para o tratamento controle de N (0 kg ha⁻¹) e controle de *A. brasilense*. O menor número de folhas senescentes foi observado a partir do fornecimento de N, e nos tratamentos com inoculação no TS e sulco de semeadura com a bactéria. Segundo Muchow e Sinclair (1994) o atraso na senescência foliar e a maior produção final de biomassa incrementam a produção de carboidratos devido a maior interceptação da radiação e pela absorção de uma maior fração da energia luminosa incidente. A perda de área foliar pela senescência afeta os componentes de rendimento em decorrência das alterações provocadas na atividade fisiológica das plantas, refletindo no rendimento da cultura (MOURA, 1999).

Tabela 5. Médias do rendimento de grãos (kg ha^{-1}), altura de planta (cm), altura de inserção de espiga (cm) e índice de área foliar (IAF, cm^2), nos tratamentos com *A. brasilense* na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

Tratamento	Rendimento de grãos	Altura (cm)	
	(kg ha^{-1})	Planta	Inserção
Controle	10520,08 b	217,64 b	121,04 b
Sulco	11221,58 a	221,70 a	123,87 a
TS	10952,27 a	221,54 a	121,80 a
Média Geral	10897,97	220,29	122,24

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Na Tabela 5 observam-se as médias encontradas para os tratamentos contendo *A. brasilense*, pela qual nota-se incremento no rendimento de grãos com a inoculação da bactéria, no sulco de semeadura onde se tem o maior acréscimo no rendimento de 701 kg ha^{-1} não diferindo estatisticamente da inoculação via TS, apresentando aumento de 432 kg ha^{-1} , comparado com o tratamento controle. Em outros ensaios já havia sido confirmada a influência do uso da bactéria *A. brasilense* no rendimento, nos experimentos realizados por Cavallet et al. (2000) e Barros Neto (2008) obtiveram incremento de 357 kg ha^{-1} e 793 kg ha^{-1} , respectivamente. De acordo com Dobbelaere et al. (2003), esse incremento ocorre em função da fixação biológica de N pela associação da bactéria *Azospirillum* com o milho, aumentando a capacidade de absorção de nutrientes e água, proporcionando desta forma, melhores condições de desenvolvimento da cultura e, conseqüentemente, aumento do rendimento de grãos.

Salomone e Döbereiner (1996) e Okon e Vanderleyden (1997) realizaram estudos em diferentes condições de cultivo e, também, encontraram aumentos no rendimento de grãos com a inoculação de *Azospirillum spp.* provenientes, provavelmente, dos efeitos benéficos dessas bactérias na FBN (OKON e VANDERLEYDEN, 1997), no aumento da atividade das enzimas fotossintéticas, e no aumento da atividade das enzimas de assimilação de N (DIDONET et al., 1996), na superfície de absorção das raízes e na produção de substâncias promotoras do crescimento (SALOMONE e DÖBEREINER, 1996).

A resposta de espécies de gramíneas à inoculação de bactéria pode ser influenciada pelas características genéticas das plantas e das estirpes, bem como, pelas condições do ambiente (HUNGRIA, 2011). Desse modo, Campos et al. (2000), com o uso do produto comercial Graminante (*A. brasilense*), não obtiveram resposta para o rendimento de grãos na

cultura do milho, o mesmo já havia sido observado por Campos et al. (1999) para as culturas de trigo e aveia.

A altura de planta (Tabela 5) foi influenciada com o uso da bactéria tanto para na aplicação no sulco de semeadura (4,06 cm) como para a aplicação via TS (3,90 cm). A altura de inserção de espiga, também foi maior para os tratamentos com inoculação, apresentando 123,87 cm e 121,80 cm para a inoculação no sulco de semeadura e TS, respectivamente. No entanto, para Cavallet et al. (2000), no experimento realizado com a inoculação da bactéria, não verificaram alteração da altura de planta, o que reduz o risco de acamamento. Porém, no experimento realizado por Braccini et al. (2010), os tratamentos com inoculação com a bactéria *A.brasilense* apresentaram maior altura de planta. Assim, as perdas e a pureza dos grãos na colheita mecanizada são diretamente influenciadas pela altura das plantas e, principalmente, pela altura de inserção, sendo que, esta característica apresenta vantagens na colheita (POSSAMAI et al., 2001).

Conforme a Figura 14 observa-se aumento significativo para os teores relativos de clorofilas *a*, *b* e *total* em função da aplicação das doses crescentes de N, com aumento do teor relativo *total* até a dose de 223 kg ha⁻¹ de N reduzindo para as doses de 225 e 300 kg ha⁻¹, indicando que a partir da dose de 223 kg ha⁻¹ de N a planta não responde ao acréscimo de N. O teor de clorofila na folha é utilizado para predizer o nível nutricional de N, devido a esse pigmento correlacionar-se, positivamente, com o teor na planta (BOOIJ et al., 2000), essa relação é atribuída, principalmente, ao fato de que 50 a 70% do N total das folhas é integrante de enzimas (CHAPMAN e BARRETO, 1997), que estão associadas aos cloroplastos (STOCKING e ONGUN, 1962).

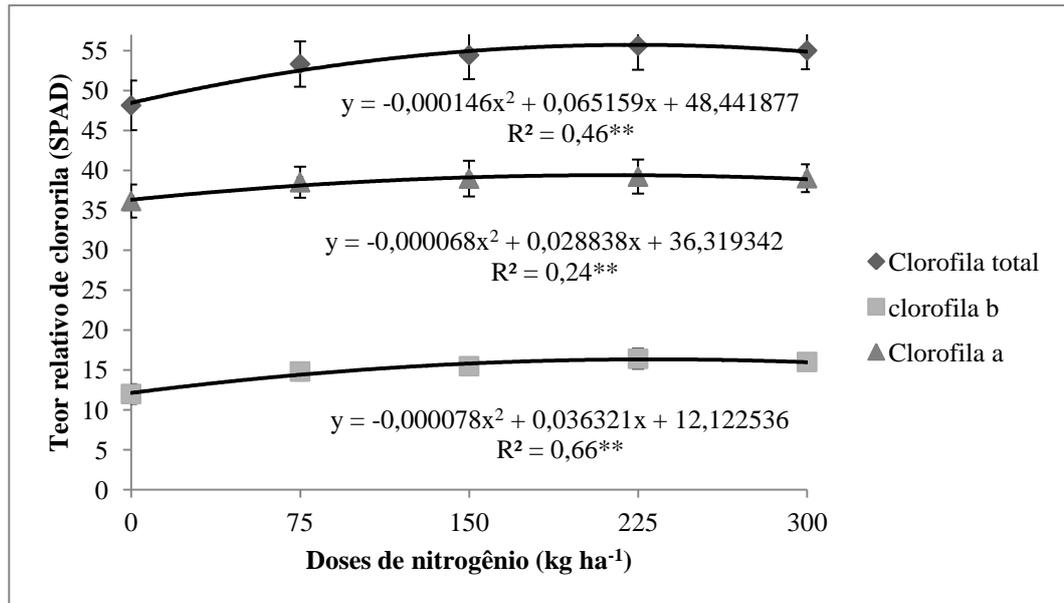


Figura 14. Teores relativos de clorofilas *a*, *b* e *total* em função da adubação nitrogenada na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.
 **, * Significativo a 1 e 5 % de probabilidade pelo teste F. As barras referem-se ao desvio padrão.

Por apresentar baixa sensibilidade ao consumo de luxo de N, a avaliação efetuada pelo medidor de clorofila está sendo considerada a melhor indicadora do nível de N na planta do que seu próprio teor (BLACKMER e SCHEPERS, 1995), obtido pelo método de extração. Conforme a Tabela 6 o teor relativo de clorofila tem média correlação linear com o rendimento de grãos, evidenciando a necessidade da presença de N na cultura.

O teor de N foliar, presente no estágio do florescimento, foi maior na dose de 200 kg ha⁻¹ de N com 30 g de N kg⁻¹ (Figura 15), variando com as doses de cobertura. Os teores adequados de N nas folhas, segundo Malavolta et al. (1997) e Raij et al. (1996) variam de 27,5 a 32,5 g de N kg⁻¹ e de 27 a 35 g de N kg⁻¹, respectivamente. O valor obtido pela regressão para a MET é de 29,64 g de N kg⁻¹ com a dose de 200 kg⁻¹ de N

Desta forma, o maior teor de N foliar proporciona maior crescimento e desenvolvimento da planta, contribuindo para um maior índice de área foliar e acúmulo de carboidratos em função da fotossíntese (MALAVOLTA et al., 2006).

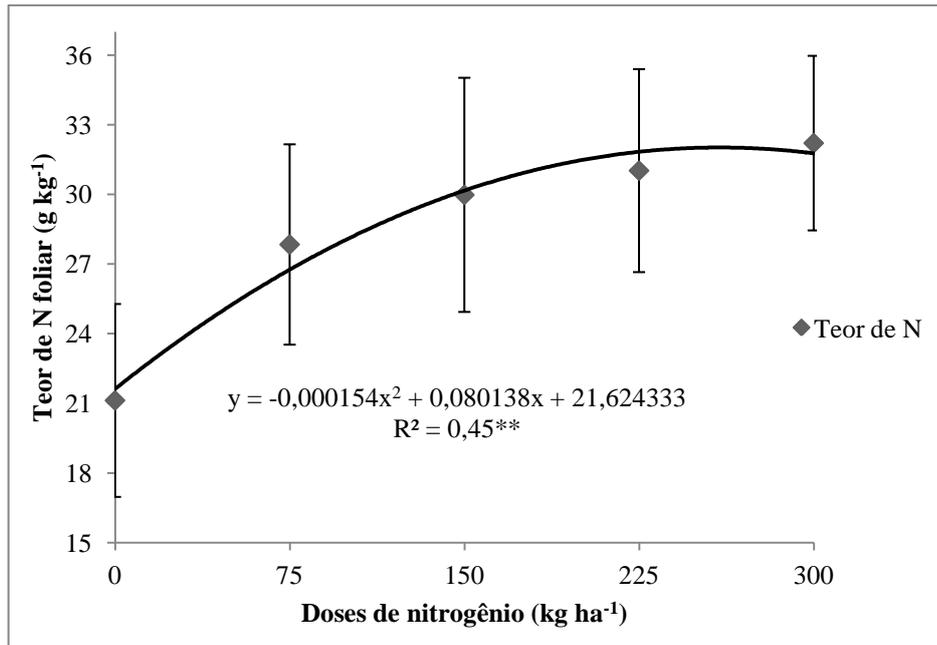


Figura 15. Médias do teor de N foliar no do florescimento, em função da aplicação de diferentes doses de N, na cultura do milho. Guarapuava, PR, 2013.

**, * Significativo a 1 e 5 % de probabilidade pelo teste F. As barras referem-se ao desvio padrão.

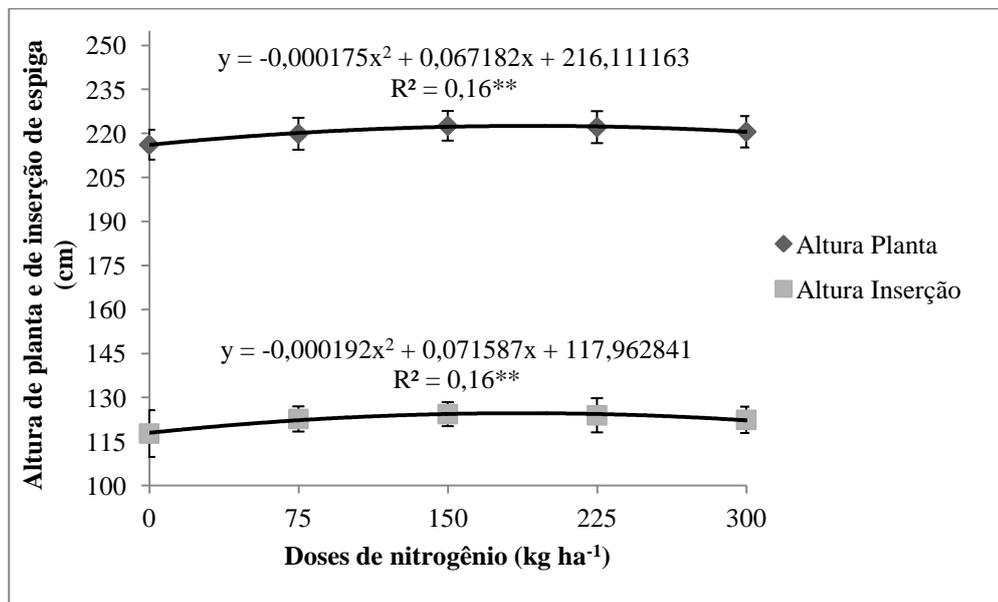


Figura 16. Altura de planta (cm) e altura de inserção de espiga (cm) obtida pela aplicação de diferentes níveis de nitrogênio na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

**, * Significativo a 1 e 5 % de probabilidade pelo teste F. As barras referem-se ao desvio padrão.

A Figura 16 apresenta as médias para altura de planta, máxima altura na dose de 191 kg ha⁻¹ de N (222,56 cm) e a mínima no tratamento controle (216,18 cm). Diferente dos resultados encontrados por Meira et al. (2009), no qual não foi encontrada diferença

significativa para as combinações de doses de N. Houve comportamento quadrático para a altura de inserção de espigas em resposta às diferentes doses de N, com altura de 124,63 cm (186 kg ha^{-1} de N), corroborando com os resultados obtidos por Portugal et al. (2012) e Mar et al. (2003) que verificaram aumento da altura de plantas e de inserção da espiga do milho safrinha (sucessão a soja), em resposta à aplicação de N em cobertura. Mendonça et al. (1999) encontraram médias de altura de inserção da espiga que variaram entre 1,20 m e 1,45 m de altura.

Na Figura 17 estão às médias obtidas na análise de grãos por fileira pela qual se nota comportamento quadrático em função das doses de N, no qual se obteve o máximo de 32,98 grãos com a dose de 195 kg ha^{-1} de N; entretanto, estudo realizado por Kappes (2009) mostrou que não houve diferença entre os tratamentos para grãos por fileira, por ser uma característica genética, comandada por vários genes e pouco influenciada por fatores edafoclimáticos e de manejo. Desta forma, o número de grãos por espiga variou com a dose de N (Figura 18) obtendo o melhor resultado (557) com 193 kg ha^{-1} de N. Sandini et al. (2011) verificaram aumento do número de fileiras, grãos por fileira e grãos por espiga com o incremento da dose de N.

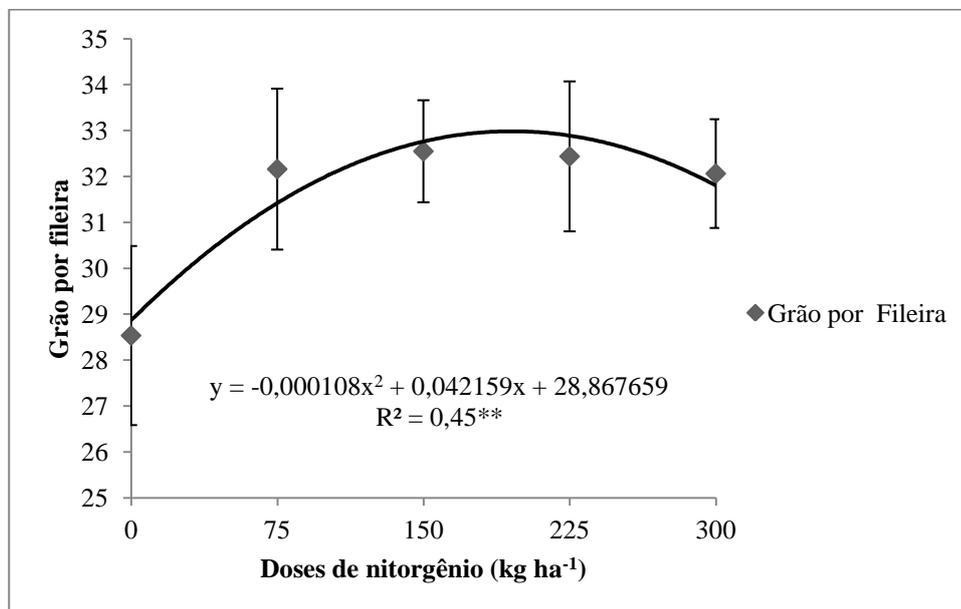


Figura 17. Grão por fileira de acordo com as doses de N na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

**, * Significativo a 1 e 5 % de probabilidade pelo teste F. As barras referem-se ao desvio padrão.

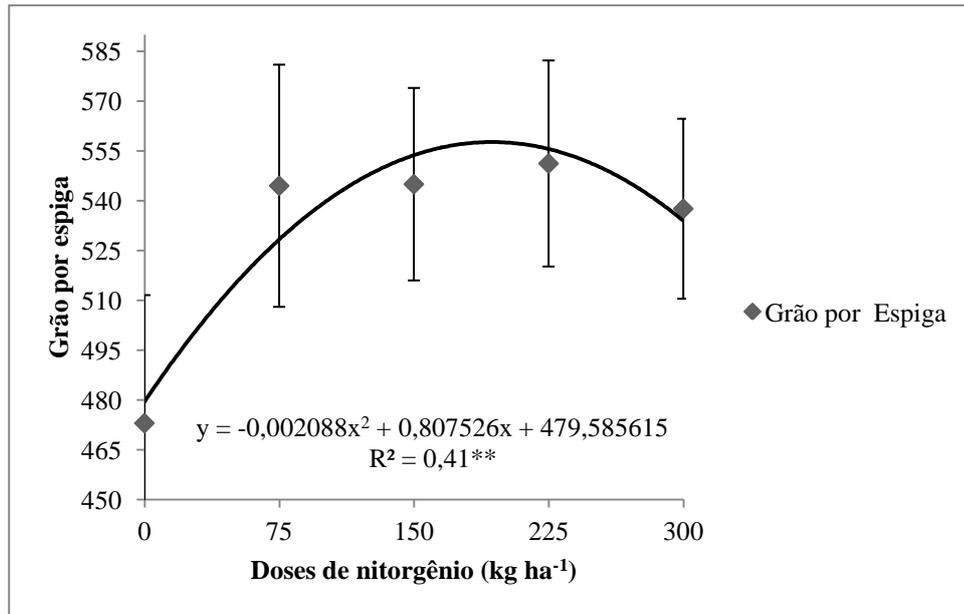


Figura 18. Grão por espiga em relação à adubação nitrogenada na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.
 **, * Significativo a 1 e 5 % de probabilidade pelo teste F. As barras referem-se ao desvio padrão.

O rendimento de grãos foi influenciado diretamente pelas doses de N (Figura 19). Os resultados mostram que o N e a bactéria se comportam de forma independente, os rendimentos obtidos foram de: 11.589 kg ha⁻¹ com a dose de 202 kg ha⁻¹ de N no tratamento controle de *A. brasilense*; 12.370 kg ha⁻¹ para a dose de 217 de N associado ao tratamento com *A. brasilense* no sulco de semeadura; e 11.969 kg ha⁻¹ com a de 212 kg ha⁻¹ de N no tratamento com inoculação via TS. De acordo com o resultado obtido o maior rendimento de grãos, com relação aos níveis de N, se deve a melhor distribuição do nutriente na planta, e maior transferência para os grãos, refletindo em incremento no rendimento (FANCELLI e DOURADO NETO, 2000). Considerando as condições deste experimento, a máxima eficiência econômica seria obtida com a utilização da dose de 91,52 kg ha⁻¹ de N.

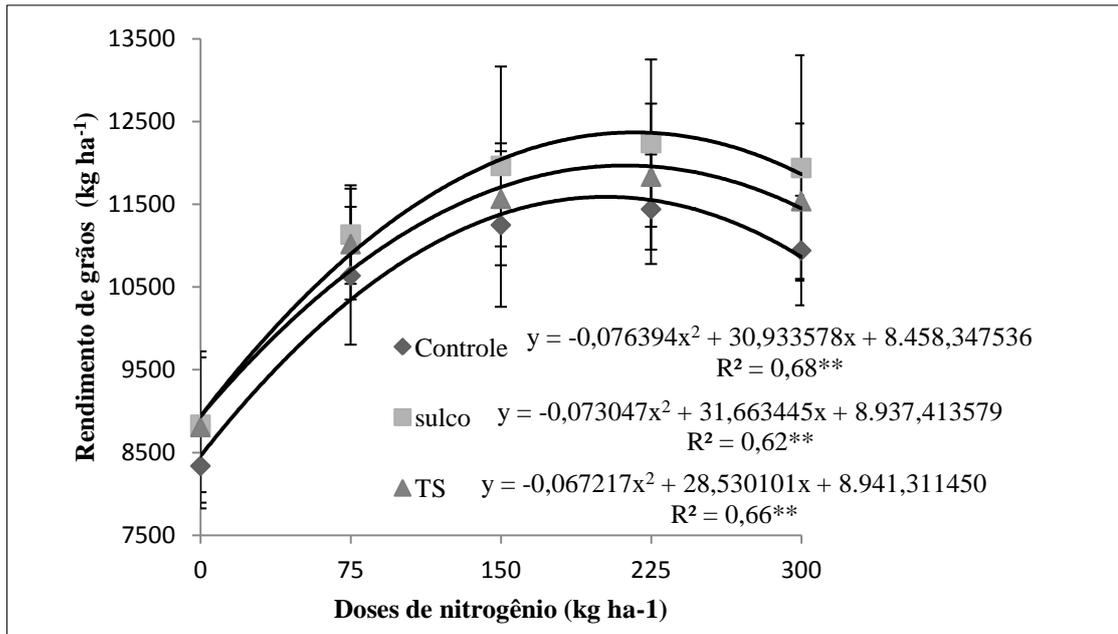


Figura 19. Rendimento de grãos em relação a adubação nitrogenada na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013. **, * Significativo a 1 e 5 % de probabilidade pelo teste F. As barras referem-se ao desvio padrão.

Em experimentos realizados por Munchow (1988) e Wolfe et al. (1988) foi demonstrado que a adubação nitrogenada aumentou o número de grãos por espiga e a rendimento de grãos da cultura, sendo que o fornecimento de N promoveu aumentos nos conteúdos foliares de clorofila e de N na cultura do milho, corroborando com os resultados obtidos neste experimento.

Por ser o N o nutriente que mais frequentemente limita o rendimento da cultura de milho, em anos nos quais as condições meteorológicas são favoráveis à cultura, a quantidade de N requerida para maximizar o rendimento de grãos pode alcançar valores superiores a 150 kg ha⁻¹. Quantidades tão elevadas dificilmente poderão ser supridas somente pelo solo, havendo a necessidade de utilizar fontes suplementares deste nutriente (AMADO et al., 2002) e disponibilizar de forma parcelada para o melhor aproveitamento da cultura.

Em estudo realizado por Ros et al. (2003) os maiores rendimentos de grãos de milho foram obtidas com a utilização das doses mais elevadas de N, com o aumento médio no rendimento de grãos com a aplicação de 30 e 90 kg ha⁻¹ de N, em relação à testemunha (sem N) foi de 1032 e 1468 kg ha⁻¹, respectivamente.

Para Mendonça et al. (1999) e Araújo et al. (2004) que estudaram a rendimento de grãos de milho em função da adubação nitrogenada, observaram a relação íntima entre esse elemento e a rendimento de grãos da cultura, contudo, os autores afirmam que os fatores

climáticos têm papel decisivo na produção, que de acordo com os dados apresentados foram satisfatórios para o desenvolvimento da cultura do milho.

No ANEXO II estão apresentadas as temperaturas máximas, médias, mínimas e a precipitação média ocorrida durante o período de realização do experimento. De modo geral, o clima foi considerado bom para o desenvolvimento da cultura, mesmo pela distribuição desuniforme das temperaturas e chuvas, podendo afirmar que o desempenho da cultura não foi influenciado pelo estresse hídrico (ANEXO IV). Penariol et al. (2003) destacam que a produção por área pode ficar comprometida, se a deficiência hídrica coincidir com o período do florescimento, fase que determina a quantidade de óvulos a serem fecundados e, por consequência, a produção de grãos. A disponibilidade hídrica que a cultura do milho necessita durante seu ciclo está compreendida entre 500 a 800 mm (EMBRAPA, 1997), durante a realização do experimento foi registrado o total de 800 mm. A temperatura média para o desenvolvimento da cultura do milho varia de 18 a 25°C (EMBRAPA, 1997), na realização do experimento foram registradas temperaturas máximas de 25,8°C e mínimas de 14,9°C obtendo uma média de 19,6°C, assim, as temperaturas foram satisfatórias para o desenvolvimento da cultura.

Tabela 6. Correlação linear entre as variáveis analisadas. 0 - 0,75 indica fraca correlação linear; 0,75-0,90 indica média correlação linear e 0,90-1,00: indica forte correlação linear (GOMES, 1990). Guarapuava, PR, 2013.

Variáveis	Cl a	Cl b	Cl total	Rendimento de grãos	Umidade	MMG	População	Índices	Ardido	Altura Planta	Altura Inserção	Fileiras por espiga	Grãos por fileira	Grão por espiga	Folhas Senescente	IAF	Total de Folhas	Teor de N foliar	
	%	%	%	kg ha ⁻¹	%	g	pls ha ⁻¹	espiga planta ⁻¹	%										
Cl a	1,00																		
Cl b	0,72	1,00																	
Cl total	0,94	0,91	1,00																
Rendimento de grãos	0,63	0,75	0,73	1,00															
Umidade	0,15	-0,16	0,01	-0,10	1,00														
MMG	0,37	0,27	0,35	0,39	-0,01	1,00													
População	0,11	0,11	0,12	0,07	0,00	0,01	1,00												
Índices	0,07	0,08	0,08	-0,01	0,00	0,10	-0,34	1,00											
Ardido	0,16	0,13	0,16	0,17	0,08	0,04	0,07	-0,03	1,00										
Altura Planta	0,44	0,48	0,49	0,54	0,09	0,13	0,02	0,11	0,05	1,00									
Altura Inserção	0,25	0,36	0,32	0,48	0,06	0,08	0,00	-0,01	0,06	0,55	1,00								
Fileiras por espiga	0,17	0,25	0,22	0,14	-0,02	-0,04	-0,07	0,05	0,04	0,17	0,02	1,00							
Grãos por fileira	0,38	0,55	0,49	0,61	-0,10	0,08	0,01	-0,10	0,13	0,25	0,26	0,15	1,00						
Grão por espiga	0,38	0,56	0,50	0,56	-0,10	0,04	-0,02	-0,07	0,13	0,28	0,22	0,57	0,90	1,00					
Folhas Senescente	-0,54	-0,74	-0,68	-0,73	0,17	-0,22	-0,09	0,01	-0,08	-0,36	-0,31	-0,18	-0,63	-0,60	1,00				
IAF	0,38	0,66	0,55	0,70	-0,23	0,07	0,08	-0,10	0,16	0,34	0,38	0,12	0,65	0,59	-0,74	1,00			
Total de Folhas	-0,13	-0,11	-0,13	-0,09	-0,06	-0,07	0,00	0,13	0,00	-0,09	0,07	-0,01	-0,13	-0,11	0,42	-0,01	1,00		
Teor de N foliar	0,34	0,58	0,48	0,56	-0,26	0,16	0,13	-0,03	0,06	0,38	0,28	0,12	0,40	0,38	-0,52	0,53	-0,06	1,00	

7.4 CONCLUSÃO

Os tratamentos com *A. brasilense* e as cinco doses de N testadas se comportaram de forma independente. A inoculação com a bactéria *A. brasilense* incrementa o rendimento de grãos do milho com melhor efeito quando aplicação no sulco de semeadura, além de promover aumento da altura de planta, altura de inserção de espiga e IAF. Apresentando-se uma tecnologia viável para o rendimento de grãos e benefícios para as características morfológicas da planta.

O rendimento de grãos é incrementado com aplicação de crescentes doses de N, a dose obtida pela máxima eficiência técnica, de 210 kg ha⁻¹ apresenta o melhor rendimento de grãos, com 11972 kg ha⁻¹, evidenciando a importância deste nutriente para o desenvolvimento e aumento do rendimento na cultura do milho.

7.5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AMADO, T.J.C; MIELNICZUK, J.; VEZZANI, F.M.; Nova recomendação de adubação nitrogenada para o milho sob plantio direto no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, n.68, p.30-35, 2002.

ARAÚJO, L. A.N.; FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P..Adubação nitrogenada na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 8, p. 771 -777, 2004.

BÁRBARO, IM.; BRANCALIÃO, S.R.; TICELLI, M. É possível fixação biológica de nitrogênio no milho. **INFOBIBOS – Informações Tecnológicas**, 2008 Online. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_2/fixacao/index.htm>. Acesso em: 25 out. 2012.

BARROS NETO, C. R. de. **Efeito do nitrogênio e da inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* no rendimento de grãos de milho**. 2008. 29p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, PR.

BODDEY, R.M.; OLIVEIRA, O.C.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M.; OLIVARES, F.L.; BALDANI, V.L.D.; DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice: contributions and prospects for improvement. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.174, p.195-209, 1995.

BOOIJ, R.; VALENZUELA, J.L. e AGUILERA, C. Determination of crop nitrogen status using non-invasive methods. In: HAVERKORT, A.J.; MACKERRON, D.K.L. (Eds.).

Management of nitrogen and water in potato production. **The Netherlands**, Wageningen Pers, 2000. p.72-82.

BRACCINI, A. L.; ÁVILA, M. R.; ALBRECHT, L. P.; CATO, S. C.; BARBOSA, M. C. **Eficiência da inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. na cultura do milho.** Maringá, 2010.

CAMPOS, B.C.de. THEISEN, S. GNATTA, V. Avaliação do inoculante “Graminante” na cultura do milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.4, p.713-715, 2000.

CAMPOS, B.C.de. THEISEN, S. GNATTA, V. Avaliação do inoculante “Graminante” nas culturas de trigo e aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.3, p.401-407, 1999.

CASTELLEN, P. **Análise estrutural e funcional da região *glnba* de *Azospirillum brasilense*.** 2005, 108p. Dissertação (Mestrado em Ciências – Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/1884/2321/1/Castellen%2c%20Patr%3c%adcia.pdf>. Acesso em jun., 2012.

CAVALLET, L.E.; PESSOA, A.C.S.; HELMICH, J.J. et al. Rendimento de grãos do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.1, p.129-132, 2000.

CHAPMAN, S.C. e BARRETO, H.J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. **Agronomy Journal**, 89:557-562, 1997.

COBUCCI, T. **Efeitos de doses e épocas de aplicação em cobertura do adubo nitrogenado no consórcio milho-feijão.** 1991. 94 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O; KENNER, M.H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasiliense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.16, n.9, p.645-651, 1996.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y.. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. **CRC Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v.22, n.2 p.107- 149, 2003

EMBRAPA – CENTRO DE PESQUISA AGROPECUÁRIO DO OESTE. Milho. Informações Técnicas. **EMBRAPA CPAQ-Currículo Técnico**, 5, Dourados, MS, 1997, 22 p.

FANCELLI, A.L. Fisiologia, nutrição e adubação do milho para alto rendimento. In: **SIMPÓSIO ROTAÇÃO SOJA/MILHO NO PLANTIO DIRETO,1**. Piracicaba, SP: POTAPHOS, 2000.

FANCELLI, A.L.. Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes na cultura de milho. **IPNI. Informações Agrônomicas**, n. 131. Piracicaba, SP, 2010. 24p.

FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 360p.

FERNANDES, F. C. S.; LIBARDI, P. L.; TRIVELIN, P. C. O. Parcelamento da adubação nitrogenada na cultura do milho e utilização do N residual pela sucessão aveia preta - milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1138-1141, 2008.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Nobel, 1990. 468p.

HUNGRIA, M. inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Embrapa Soja**. Londrina, 2011. 36p.

KAPPES, C. et al. Influência do nitrogênio no desempenho produtivo do milho cultivado na segunda safra em sucessão à soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 3, p. 251-259, jul./set. 2009.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants, **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v.63, n.7, p.366-370, 1997.

MAR, G. D.; MARCHETTI, M. E.; SOUZA, L.C. F.; GONÇALVES, M. C.; NOVELINO, J. O. Produção do milho safrinha em função de doses e épocas de aplicação de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 62, p. 267-274, 2003.

MEIRA, F.A.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; SÁ, M.E.; ANDRADE, J.A.C. Fontes e Épocas de Aplicação do Nitrogênio na Cultura de Milho Irrigado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, V.30, n.2, p.275-284, abr/jun. 2009.

MENDONÇA, F. C.; MEDEIROS, R.D; BOTREL, T.A.; FRIZZONE, J. A.. Adubação nitrogenada do milho em um sistema de irrigação por aspersão em linha. **Scientia Agricola**, v. 6, n. 4, p.1035-1044, 1999.

MOURA, G.M.. Efeito do desfolhamento no rendimento do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.34, n.1, p.57-62, 1999.

MUCHOW, R.C. Effect of nitrogen supply on the comparative productivity of maize and sorghum in a semi-arid tropical environment. Leaf growth and leaf nitrogen. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.18, n.1, p. 1-16, 1988.

MUCHOW, R.C.; SINCLAIR, T.R. Nitrogen response of leaf photosynthesis and canopy radiation use efficiency in field grown maize and sorghum. **Crop Science**. v.34, p.721-727, 1994 .

PENARIOL, F. G. et al. Comportamento de cultivares de milho semeadas em diferentes espaçamentos entre linhas e densidades populacionais, na safrinha. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 2, n. 2, p. 52-60, 2003.

PEREIRA, A.R.; MACHADO, E.C. Análise quantitativa do crescimento de comunidade

vegetal. **Boletim Técnico**, n. 114. Campinas: Instituto Agronômico, 1987. 33 p.

PERIN, L.; SILVA, M.F da; FERREIRA, J.S.; CANUTO, E.L.; MEDEIROS, A.F.A.; OLIVARES, F.L.; REIS, V.M. Avaliação da capacidade de estabelecimento endofítico de estirpes de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* em milho e arroz. **Revista Agronomia**, Seropédica, vol. 37, n.2, p. 47-53, 2003.

PORTUGAL, J.R; ARF, O.; LONGUI, W.V; GITTI, D.C.; BARBIERI, M.K.F.; GONZAGA, A.R; TEIXEIRA, D.S.. Inoculação com *Azospirillum brasilense* via foliar associada à dose de nitrogênio em cobertura na cultura do milho. XXIX **Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, Águas de Lindóia, SP, ago, 2012.

POSSAMAI, J. M. et al. Sistemas de preparo do solo para o cultivo do milho safrinha. **Bragantia**, SP, v. 60, n. 2, p. 79-82, 2001.

RAMOS, M.L.G. e RIBEIRO, W.Q. Effect of fungicides on survival of *Rhizobium* on seeds and the nodulation of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Soil**, 152:145-150, 1993.

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J.; BENSON, G.O. How a corn plant develops? Ames: Iowa State University of Science and Technology, **Special report**, n. 48. 1993. 26p.

ROS, C.O. DA; SALET, R.L.; PORN, R.L.; MACHADO, J.N.C.. Disponibilidade de nitrogênio e rendimento de grãos de milho e trigo com diferentes métodos de adubação nitrogenada no sistema plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.5, p.799-804, set-out, 2003

SÁ, J. C. M. Manejo do nitrogênio na cultura do milho no sistema plantio direto. Passo Fundo: **Aldeia Norte**, 1996. 24 p.

SALOMONE, G.; DÖBEREINER, J. Maize genotypes effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology Fertilizer Soils**, Oxford, v.21, p.193-196, 1996.

SANDINI, I.E.; MORAES, A. DE.; PELISSARI, A.; NEUMANN, M.; FALBO, M.K.; NOVAKOWISKI, J.H.. Efeito residual do nitrogênio na cultura do milho no sistema de produção integração lavoura-pecuária. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v.41, n.8, p.1315-1322, 2011.

SILVA, F.C.; MURAOKA,T; GUIMARÃES,G. L.; BUZETT, S. Acúmulo de nutrientes em plantas de cobertura e no milho cultivado em sucessão sob diferentes doses de nitrogênio em plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 5, p.202-217, 2006.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

STOKING, C.R. e ONGUN, A. The intracellular distribution of some metallic elements in leaves. **American Journal of Botany**, 49:284- 289, 1962.

VARVEL, G.E.; SCHPERS, J.S. & FRANCIS, D.D. Ability for in-season correction of

nitrogen deficiency in corn using chlorophyll meters. **Soil Science of American Journal**, 61:1233-1239, 1997.

VORPAGEL, A.G.. **Inoculação de *Azospirillum*, isolado e associado a bioestimulante, em milho, no noroeste do RS.** (Trabalho de conclusão de curso – Curso de Agronomia – Departamento de Estudos Agrários da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – UNIJUÍ). Ijuí, RS, jul., 2010.

YAMADA, T. Adubação nitrogenada do milho: quanto, como e quando aplicar. Piracicaba, **Potafos**, Informações Agronômicas, n. 74. 1996. 5p.

Wolfe D.W.; Henderson D.W.; Hsiao T.C.; Alvino A.. Interactive water and nitrogen effects on senescence of maize: I. Leaf area duration, nitrogen distribution, and yield. **Agronomy Journal**. 80:859–864, 1988

8. CAPÍTULO - 3. AZOSPIRILUM BRASILENSE INOCULADO NO TRATAMENTO DE SEMENTES E NO SULCO DE SEMEADURA EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO FOLIAR DE BIOESTIMULANTE NA CULTURA DO MILHO

AZOSPIRILUM BRASILENSE INOCULATED IN SEED TREATMENT AND IN SEED FURROW, DEPENDING ON FOLIAR APPLICATION OF BIOSTIMULANT INCORN CROP

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi mensurar o efeito da inoculação de *A. brasilense*, via TS e sulco de semeadura, em associação a aplicação de bioestimulante, via foliar, na cultura do milho. O experimento foi conduzido em Guarapuava (PR), no ano agrícola de 2011, o qual foi constituído de seis tratamentos (*A. brasilense* no TS, sulco de semeadura e controle, associado à aplicação de bioestimulante, no estágio V4 e sem aplicação no tratamento controle), com 20 repetições. Foram avaliados os teores de clorofilas *a*, *b* e *total*, teor de N foliar, folhas senescentes no florescimento, total de folhas verdes, IAF, população de plantas, altura de planta, altura de inserção de espiga, número de espigas por planta, número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira, número de grãos por espiga, massa de mil grãos, grãos ardidos e rendimento de grãos. Concluindo-se que a inoculação com a bactéria aumentou o rendimento, massa de mil grãos, altura de planta, altura de inserção de espiga e IAF. A utilização do bioestimulante reduziu, significativamente, o rendimento de grãos e massa de mil grãos e obteve-se interação dos fatores para o teor de clorofila *b*.

Palavras-chave: rendimento de grãos, bactéria diazotrófica, regulador vegetal.

ABSTRACT

The aim of this paper was to measure the effect of inoculation with *A. brasilense* inoculated seed treatment and seed furrows, depending on foliar application of biostimulant in corn. An experiment was carried out in Guarapuava, Paraná, Brazil in 2011. There were six treatments (inoculation of *Azospirillum brasilense* in seed treatment, seed furrows and control and

biostimulant application at V4 growth stage and control) and 20 replications. Chlorophyll a, b and total, foliar nitrogen content, number of senescent leaves at flowering, number total of leaves, leaf area index, plant population, plant height, leaf insertion height, number of leaves per plant, number of rows per leaf, number of kernels per row, number of kernels per leaf, thousand grain mass and grain yield were the characteristics evaluated. The inoculation with the diazotrophic bacteria had significant response to grain yield, thousand grain mass, plant height, leaf insertion height, and leaf area index. The use of biostimulant reduced grain yield and thousand grain mass, and there was an interaction of factors for chlorophyll b.

Keywords: yield grain, diazotrophic bacteria, plant growth regulator.

8.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Azospirillum* compreende bactérias diazotróficas de vida livre, amplamente, encontradas em solos de clima tropical e subtropical, em associação com as raízes de gramíneas de grande importância econômica como milho, arroz, trigo e diversas forrageiras, além de outras espécies vegetais. De 30 a 90% das amostras de solo coletadas, em todo o mundo, contêm *A. brasilense* ou *A. lipoferum* (DÖBEREINER e DAY, 1976).

As bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* são fixadoras de nitrogênio atmosférico, que associadas à rizosfera das plantas podem, possivelmente, contribuir com a nutrição nitrogenada (BODDEY e DÖBEREINER, 1995). De acordo com Morais (2012), a associação positiva entre as bactérias diazotróficas e o milho tem sido demonstrado por diversos resultados de pesquisa, sendo que a maioria das associações resultou em aumento da produção e/ou acúmulo de matéria seca e acúmulo de nitrogênio nas plantas inoculadas, o que parece estar relacionado com o aumento da atividade das enzimas fotossintéticas e de assimilação de N (DIDONET et al., 1996).

A utilização de bactérias diazotróficas como uma alternativa para aumentar a disponibilidade de N para as culturas pode ser uma opção menos onerosa e mais viável ecologicamente (BARTCHECHEN et al., 2011). Além disso, as bactérias do gênero *Azospirillum* são conhecidas pela sua capacidade de produzir hormônios vegetais como auxinas, giberelinas e citocininas (HARTMAN e ZIMMER, 1994). De acordo com Quadros

(2009) tem-se verificado que a liberação destes hormônios vegetais estimula a formação de pelos radiculares, a taxa de aparecimento de raízes secundárias e a superfície radicular.

A auxina promove o crescimento por alongamento, via aumento na capacidade de extensão da parede celular. O tratamento da planta com auxina exógena resulta em um modesto e breve estímulo no crescimento de caules jovens e coleótilos. Baixos níveis de auxina são também necessários para o alongamento da raiz, sendo que altas concentrações podem inibir o crescimento desse órgão (TAIZ e ZEIGER, 2012).

A citocinina estimula a formação das folhas na planta (TAIZ e ZEIGER, 2012), participa da regulação de muitos processos do vegetal, incluindo a divisão celular, senescência foliar, mobilização de nutrientes, dominância apical, formação e atividade dos meristemas apicais, desenvolvimento floral, germinação de sementes e a quebra da dormência de gemas. A razão entre auxina e citocinina determina a divisão celular e a diferenciação em raiz ou gema de tecidos vegetais cultivados, sendo que a alta relação auxina:citocinina estimula a formação de raízes (TAIZ e ZIEGER, 2012).

As giberelinas apresentam como atividade principal a estimulação da divisão celular e/ou do alongamento celular (ROWE, 1968) que estão associadas à promoção do crescimento do caule e a sua aplicação pode induzir a aumentos significativos na altura. As giberelinas podem também, afetar a transição do estágio juvenil para o maduro, a indução da floração, a determinação do sexo e o estabelecimento de fruto (TAIZ & ZIEGER, 2012).

Estes reguladores vegetais estão presentes na formulação dos bioestimulantes. O emprego de bioestimulantes tem grande importância para o incremento de produção e lucratividade, sobretudo em sistemas de produção tecnificados ou em locais que apresentam comprovadas situações de estresse (FANCELLI, 2010).

Em função da sua composição, concentração e proporção das substâncias que o compõe, o bioestimulante pode incrementar o crescimento e desenvolvimento vegetal estimulando a divisão celular, diferenciação e o alongamento das células podendo também, aumentar a absorção e a utilização de água e nutrientes pelas plantas (STOLLER DO BRASIL, 1998).

No milho o uso de bioestimulantes pode contribuir para a melhoria da relação entre raiz e parte aérea para a maior reserva no colmo e para aumentar a eficiência do processo de translocação de fotoassimilados para os grãos, resultando no aumento de rendimento de grãos (FANCELLI, 2010).

Desta forma, o objetivo deste experimento foi mensurar o efeito da inoculação com *A. brasilense*, no TS e sulco de semeadura, em função da aplicação, via foliar, de bioestimulante na cultura do milho.

8.2 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no ano agrícola de 2011, na fazenda Galo Vermelho localizada no município de Guarapuava, PR (ANEXO I), a 25°33' latitude Sul e 51°29' longitude Oeste, apresentando altitude de aproximadamente 1100 m e clima classificado, segundo a classificação de Köppen, como Cfb, subtropical mesotérmico úmido, com verões amenos e sem estação seca definida (IAPAR, 2011). A precipitação e as temperaturas ocorridas durante a realização do experimento podem ser observadas no ANEXO II, sendo a distribuição da chuva adequada para o desenvolvimento da cultura do milho (ANEXO IV).

O solo da área é classificado como Latossolo Bruno Distroférrico Típico. Antes da instalação do experimento foi realizada a amostragem do solo (0-20 cm de profundidade), conforme ANEXO III. Em razão da análise do solo a adubação de base foi realizada com 350 kg ha⁻¹ da formulação, N-P-K, 12-31-17 + 0,4% Zn e como adubação de cobertura foram parcelados 150 kg ha⁻¹ de N dos estádios V2 e V5.

Utilizou-se o híbrido comercial 30F53HRR (Pioneer®) com as características de ciclo precoce, cor do grão alaranjado, textura do grão semi-duro, altura de espiga de 1,10 a 1,20 m e altura de planta de 2,60 a 2,80 m. A semeadura manual foi realizada no dia 03/10/2011 e cada parcela foi composta por quatro linhas, de sete metros de comprimento e com espaçamento de 0,60 m entre linhas, com o objetivo de totalizar 80 mil plantas ha⁻¹. Como área útil para a colheita foi escolhida a terceira linha do experimento excluindo-se 0,50 m da bordadura.

Durante o ciclo de desenvolvimento da cultura foi realizado o controle químico de plantas daninhas com Mesotriona (0,4 L i.a. ha⁻¹) e Atrazina (1,750 g i.a ha⁻¹), o controle de doenças com a aplicação do fungicida Opera® (0,75 L ha⁻¹, p.a. piraclostrobina). As pulverizações foliares foram realizadas utilizando pulverizador costal contendo pontas de pulverização de jato leve (leque) espaçadas em 0,50 m uma da outra, sendo utilizada pressão de trabalho de 30 lb pol⁻², resultando volume de calda de 200 L ha⁻¹.

Os tratamentos foram dispostos em delineamento de blocos ao acaso em esquema fatorial 3x2, os tratamentos constituíram-se da inoculação de *A. brasilense* no TS (100 mL ha⁻¹), sulco de semeadura (300 mL ha⁻¹) e controle (sem inoculação) em função da aplicação, ou não, do bioestimulante (250 mL ha⁻¹) via foliar no estágio fenológico V4, totalizando seis tratamentos com 20 repetições. Foi utilizado o inoculante a base de *A. brasilense* da marca comercial Masterfix L. Gramíneas® (estirpes Abv5 e Abv6) e o bioestimulante Stimulate® (0,009% de cinetina (citocinina); 0,005% de ácido giberélico (giberelina) e 0,005% de ácido indolilbutírico (auxina)) ambos os produtos fabricados pela empresa Stoller do Brasil.

O florescimento ocorreu aos 86 dias após a semeadura (28/12/2011) e neste estágio foram realizadas as análises de IAF, contagem do número de folhas senescentes, determinação do teor de clorofila com auxílio do determinador ClorofiLog (Falker) e realização da coleta de cinco folhas índice (folha abaixo da espiga) para a determinação do teor de nitrogênio foliar conforme metodologia descrita por SILVA (2009).

No ponto de colheita aos 173 DAE (24/03/2012) avaliou-se o desempenho produtivo pelas características de: altura de planta, altura de inserção de espiga, índice de espigamento, fileiras de grãos por espiga, grãos por fileira (de seis espigas de cada parcela) e, assim, realizada a proporção de grãos por espiga, análise de grãos ardidos e contagem de 300 grãos para estimar o peso de 1000 grãos. A umidade foi corrigida para 13% e, em seguida, o valor foi convertido para kg ha⁻¹ para a determinação do rendimento de grãos.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias dos tratamentos comparados pelo teste Tukey ($p > 0,05$), utilizando o programa SISVAR. A variável de grãos ardidos sofreu transformação $\sqrt{x} + 1$, as demais médias analisadas não sofreram transformações.

8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa (Tabela 7) entre a inoculação com *A. brasilense* e aplicação do bioestimulante para o teor de clorofila *b*, as demais variáveis se comportam de maneira independente. Com a inoculação de *A. brasilense* houve diferença significativa para rendimento de grãos, massa de mil grãos, altura de planta, altura de inserção de espiga e índice de área foliar. Já a diferença significativa para a utilização do bioestimulante foi para o teor de clorofila *b*, rendimento e massa de mil grãos.

Tabela 7. Teores de clorofilas *a*, *b* e *total* (%), rendimento de grãos (kg ha⁻¹), massa de mil grãos (MMG (g)), população de plantas, espigas por planta, grãos ardidos, altura de planta (cm), altura de inserção de espiga (cm), fileiras por espiga, grãos por fileira, grãos por espiga, índice de área foliar (cm²), folhas senescentes no florescimento e total de folhas no florescimento em função da inoculação de *Azospirillum brasilense* e aplicação de bioestimulante na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

Fator de variação	GL	Quadrados Médios					
		Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total	Rendimento de grãos	MMG	População de plantas
Bloco	3	26,03 (0,00)**	17,25 (0,00)**	75,78 (0,00)**	10076508,87 (0,00)**	439,07(0,06)	2314824,08 (0,96)
<i>Azospirillum</i> (A)	2	2,26 (0,18)	1,18 (0,31)	6,59(0,16)	5009469,21(0,00)**	162,15(0,54)	7983780,79 (0,18)
Bioestimulante (B)	1	0,60 (0,50)	4,45(0,04)*	8,31 (0,13)	9188698,07 (0,00)**	3051,29(0,01)**	3826545,99 (0,36)
A x B	2	2,54 (0,15)	3,27(0,04)*	10,19(0,06)	750387,16 (0,19)	423,59(0,21)	992067,43 (0,81)
Erro	87	1,3	0,99	3,57	446738,1	263,02	4594341,45
CV ² %		2,98	6,66	3,54	6,13	5,69	2,64
Média		38,37	14,93	53,29	10897,97	284,91	81091,43

Continuação Tabela 7.

Fator de variação	GL	Quadrados Médios					
		Espigas por planta	Grãos Ardidos ¹	Altura		Fileiras por espiga	Grãos por fileira
				Planta	Inserção		
Bloco	3	0,002 (0,01)**	0,28 (0,32)	72,90 (0,00)**	67,14 (0,00)**	0,39 (0,45)	17,09 (0,00)**
<i>Azospirillum</i> (A)	2	0,001 (0,20)	0,71 (0,06)	211,95 (0,00)**	85,50 (0,05)*	0,28 (0,48)	1,22 (0,60)
Bioestimulante (B)	1	0,0003(0,58)	0,36 (0,23)	50,01 (0,12)	73,60 (0,10)	0,59 (0,22)	0,0021 (0,98)
A x B	2	0,0008 (0,82)	0,01 (0,96)	4,74 (0,80)	31,71 (0,32)	0,02 (0,95)	2,59 (0,34)
Erro	87	0,0008	0,25	20,66	27,35	0,39	2,36
CV ² %		2,78	33,38	2,06	4,28	3,7	4,87
Média		1,03	1,49	220,29	122,24	16,8	31,55

Continuação Tabela 7.

Fator de variação	GL	Quadrados Médios				
		Grão por espiga	Folhas senescentes no florescimento	Índice de área foliar	Total de folhas no florescimento	Teor de N foliar
Bloco	3	6091,66 (0,00)**	7,89 (0,00)**	1,09 (0,00)**	0,37 (0,86)	71,33 (0,00)**
<i>Azospirillum</i> (A)	2	1142,35 (0,36)	0,28 (0,66)	0,39 (0,02)*	0,68 (0,31)	37,40 (0,26)
Bioestimulante (B)	1	491,06 (0,50)	0,23 (0,56)	0,002 (0,90)	0,08 (0,72)	9,65 (0,55)
A x B	2	540,90(0,61)	0,16 (0,79)	0,02 (0,85)	0,98 (0,19)	4,17 (0,86)
Erro	87	1094,15	0,67	0,1	0,57	27,15
CV %		6,24	26,04	6,23	4,74	18,33
Média		530,24	3,14	5,11	15,98	28,43

(¹) Variável transformada para $\sqrt{x+1}$. (²) CV coeficiente de variação.

**significativo ao nível de 1% de probabilidade, *significativo ao nível de 5% de probabilidade.

A Tabela 8 apresenta a interação, significativa positiva, das médias obtidas no teor de clorofila *b*, onde houve diferença quando inoculado, via TS e aplicado o bioestimulante houve incremento no teor de clorofila *b*. Conforme Repke et al. (2009), os reguladores vegetais estão diretamente relacionados com o aumento do teor de clorofila, principalmente, a citocinina que retarda a degradação de clorofila e promove a síntese de clorofila, o que, possivelmente, ocorreu neste tratamento, onde além da aplicação do bioestimulante se teve a inoculação com a bactéria que estimulou a planta a produzir citocinina, elevando assim, o teor de clorofila *b*. Contudo os incrementos, positivos, da associação (*A. brasilense* e bioestimulante) ocorreu somente para a variável clorofila *b*, não alterando a clorofila *total*.

Bashan et al. (2006) relatam incremento em vários pigmentos fotossintéticos, tais como clorofilas *a* e *b* que resultariam em plantas mais verdes, quando inoculadas com *A. brasilense*.

Tabela 8. Teor de clorofila *b* (método SPAD - índice adimensional) em folhas de plantas de milho em função da inoculação de *A. brasilense* e aplicação de bioestimulante. Guarapuava, PR, 2013.

Tratamento	Controle	Sulco	TS
Controle	15,22 a	15,14 a	14,99 a
Bioestimulante	14,37 a	14,58 ab	15,25 b
Média Geral	29,59	30,72	30,24

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 9. Rendimento de grãos (kg ha^{-1}), massa de mil grãos (MMG) (g), altura de planta (cm), altura de inserção de espiga (cm) e IAF (m^2) em função da inoculação de *A. brasilense* e aplicação de bioestimulante na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

Tratamento	Rendimento de grãos	MMG	Altura (cm)		IAF
	(kg ha^{-1})		(g)	Planta	
Controle	10520,08 a	282,58 a	217,64 a	121,04 a	5,03 a
Sulco	11221,58 b	286,13 a	221,70 b	123,87 b	5,22 b
TS	10952,27 b	286,00 a	221,54 b	121,80 ab	5,07 ab
Média Geral	10897,97	284,91	220,29	122,24	5,11

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

O rendimento (Tabela 9) foi afetada de forma significativa com a inoculação da bactéria aplicada via TS com incremento de 432 kg ha^{-1} e para o sulco de semeadura esse incremento foi de 701 kg ha^{-1} , mostrando que a inoculação é eficiente para as duas formas de aplicação, comparando as duas tecnologias o incrementando no rendimento de grãos foi de 269 kg ha^{-1} para aplicação no sulco de semeadura. Assim, a massa de mil grãos foi afetada com a inoculação, na ordem de 286,58 e 286 g para aplicação no sulco de semeadura e TS, respectivamente. O rendimento do milho é o resultado de vários fatores integrados, sendo que a massa de grãos e o número de grãos por espiga são os componentes mais importantes no rendimento de grãos (FANCELLI e DOURADO NETO, 2000).

Evidências a campo demonstram que a inoculação de sementes com *Azospirillum*, além de incrementar o rendimento do milho, nas mais distintas condições, também pode contribuir para a economia de 30 a 50 kg ha^{-1} de nitrogênio, além de favorecer o aumento da viabilidade técnica e econômica da safrinha (FANCELLI, 2010).

Salomone e Döbereiner (1996) e Okon e Vanderleyden (1997) também encontraram aumentos de rendimento de grãos com a inoculação de *Azospirillum* spp. nas mais diversas condições de cultivo oriundos, provavelmente, dos efeitos benéficos dessas bactérias na fixação biológica de nitrogênio. Cavallet et al. (2000) obtiveram resultados positivos, constatando aumento de 17% no rendimento de grãos de milho quando inocularam as sementes com *Azospirillum*. Lana et al. (2012) observaram que a inoculação proporcionou incrementos no rendimento de 15,4 e 7,4%, para as safras 2000/2001 e 2002/2003, respectivamente. Barros Neto (2008), utilizando *A. brasiliense* em experimento com milho, obteve aumento no rendimento de grãos de 9.021 kg ha^{-1} para o tratamento testemunha e 9.814 kg ha^{-1} para o tratamento com inoculação, ou seja, rendimento médio de 9% superior à testemunha.

A altura de planta foi influenciada pela inoculação, incrementando 4,06 e 3,90 cm no sulco de semeadura e TS, respectivamente. Diante deste aumento a altura de inserção de espiga também foi afetada, crescendo em 0,76 e 2,83 cm no TS e no sulco de semeadura (Tabela 9). De acordo com as características do híbrido, a altura de planta varia de 2,60 a 2,80 e a altura de inserção de espiga fica em torno de 1,20 m. Dessa forma, a altura de inserção ficou na média da característica do híbrido e a altura de planta ficou abaixo, contudo notou-se variação na altura com a forma de inoculação. Ensaio conduzidos por Hungria (2011) mostram a maior altura de plantas e maior produção de raízes e coloração mais verde, devido ao maior teor de clorofila. Na cultura do arroz, Moura (2010) observou que não houve efeito significativo da inoculação de sementes com *A. brasilense*. Cavallet et al. (2000) mesmo com o aumento da rendimento de grãos de grãos e o comprimento de espiga, a inoculação com a bactéria não alterou a altura de plantas ($p > 0,05$) que foi em média de 2,21 m.

A variável IAF foi influenciada pela inoculação no TS e no sulco de semeadura (Tabela 9), observando acréscimo de 0,07 e 0,22 m². Barassi et al. (2008), com inoculação de *Azospirillum*, obtiveram maior produção de biomassa, assim, melhora nos parâmetros fotossintéticos das folhas, incluindo o teor de clorofila e condutância estomática, melhora no potencial hídrico, incremento no teor de água do apoplasto e maior elasticidade da parede celular. Conforme Fancelli (2010), o rendimento de grãos aumenta significativamente com os incrementos do índice área foliar (IAF), o qual varia de 4 a 6, segundo resultados obtidos no *Corn Belt* americano.

Tabela 10. Rendimento de grãos (kg ha⁻¹) e massa de mil grãos (g) em função da inoculação de *A. brasilense* e aplicação de bioestimulante na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

Tratamento	Rendimento de grãos	MMG
	(kg ha ⁻¹)	gramas
Controle	11174,69 a	289,95 a
Bioestimulante	10621,26 b	279,86 b
Média Geral	10897,97	284,91

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A utilização de bioestimulante respondeu de forma negativa para o rendimento e massa de mil grãos, a redução foi na ordem de 553,43 kg ha⁻¹ e 10,09 g, respectivamente (Tabela 10). O rendimento de grãos em milho é determinado pela densidade de plantas, prolificidade ou número de espigas por planta, número médio de fileiras de grãos por espiga, número médio de grãos por fileira e massa média dos grãos (NEL e SMITH, 1978, *apud*

BALBINOT JR. et al., 2005).

Considerando que estatisticamente não houve diferenças significativas entre o número de espigas por parcela, número de fileiras por espiga e número de grãos por fileira, o principal componente direto de rendimento, que explica a diferença significativa no ganho de rendimento de grãos a campo para o tratamento controle é a massa de mil grãos e, assim, com o decréscimo da massa de mil grãos, também se notou perda no rendimento de grãos para a utilização do bioestimulante.

Ferreira et al. (2007) em aplicações de bioestimulantes na semente do milho, não encontraram diferença significativa para o rendimento de grãos, apenas para massa seca de raízes e parte aérea. Vorpagel (2010) estudando o efeito da inoculação com *A. brasilense* associado ao tratamento de sementes com o bioestimulante observou tendências negativas em termos de rendimento, apesar de não diferir estatisticamente quando comparado ao uso isolado de *A. brasilense* ou ao controle.

Tabela 11. Médias obtidas no rendimento de grãos (kg ha⁻¹) em função da inoculação de *A. brasilense* e aplicação de bioestimulante na cultura de milho. Guarapuava, PR, 2013.

	Controle	Tratamento de sementes	Sulco de semeadura
Controle	10749,29 a	11122,10 a	11652,69 b
Bioestimulante	10290,87 a	10782,44 a	10790,47 a
Média Geral	10520,08	10952,27	11221,58

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Na Tabela 11 encontram-se as médias obtidas nos tratamentos que mostra que a utilização do bioestimulante influenciou na redução do rendimento final, observando que a redução foi na ordem de 458,42; 339,66 e 862,22 kg ha⁻¹ para o tratamento controle, inoculação via TS e sulco de semeadura, associado ao bioestimulante, respectivamente. Desse modo, mesmo não havendo interação entre os fatores observa-se tendências de redução de rendimento com a aplicação do bioestimulante, via foliar, no estágio V4. Há poucos estudos realizados com a aplicação do bioestimulante nas condições deste experimento. Assim, seria importante que fossem realizados outros experimentos para a recomendação adequada da inoculação com *A. brasilense* e a aplicação de bioestimulante na cultura do milho.

Na Tabela 12 é apresentada a correlação linear entre as variáveis analisadas, observando que a rendimento de grãos e o teor relativo de clorofila tiveram correlação linear média entre si, as demais variáveis apresentaram baixa correlação linear.

Tabela 12. Correlação linear entre as variáveis analisadas. 0 - 0,75 indica fraca correlação linear; 0,75-0,90 indica média correlação linear e 0,90-1,00: indica forte correlação linear (GOMES, 1990). Guarapuava, PR, 2013.

Variáveis	CI a	CI b	CI total	Rendimento de grãos	Umidade	MMG	População	Índices	Ardido	Altura Planta	Altura Inserção	Fileiras por espiga	Grãos por fileira	Grão por espiga	Folhas Senescente	IAF	Total de Folhas	Teor de N foliar	
	%	%	%	kg ha ⁻¹	%	g	pls ha ⁻¹	espiga planta ⁻¹	%										
CI total	0,94	0,91	1,00																
Rendimento de grãos	0,63	0,75	0,73	1,00															
Umidade	0,15	-0,16	0,01	-0,10	1,00														
MMG	0,37	0,27	0,35	0,39	-0,01	1,00													
População	0,11	0,11	0,12	0,07	0,00	0,01	1,00												
Índices	0,07	0,08	0,08	-0,01	0,00	0,10	-0,34	1,00											
Ardido	0,16	0,13	0,16	0,17	0,08	0,04	0,07	-0,03	1,00										
Altura Planta	0,44	0,48	0,49	0,54	0,09	0,13	0,02	0,11	0,05	1,00									
Altura Inserção	0,25	0,36	0,32	0,48	0,06	0,08	0,00	-0,01	0,06	0,55	1,00								
Fileiras por espiga	0,17	0,25	0,22	0,14	-0,02	-0,04	-0,07	0,05	0,04	0,17	0,02	1,00							
Grãos por fileira	0,38	0,55	0,49	0,61	-0,10	0,08	0,01	-0,10	0,13	0,25	0,26	0,15	1,00						
Grão por espiga	0,38	0,56	0,50	0,56	-0,10	0,04	-0,02	-0,07	0,13	0,28	0,22	0,57	0,90	1,00					
Folhas Senescente	-0,54	-0,74	-0,68	-0,73	0,17	-0,22	-0,09	0,01	-0,08	-0,36	-0,31	-0,18	-0,63	-0,60	1,00				
IAF	0,38	0,66	0,55	0,70	-0,23	0,07	0,08	-0,10	0,16	0,34	0,38	0,12	0,65	0,59	-0,74	1,00			
Total de Folhas	-0,13	-0,11	-0,13	-0,09	-0,06	-0,07	0,00	0,13	0,00	-0,09	0,07	-0,01	-0,13	-0,11	0,42	-0,01	1,00		
Teor de N foliar	-0,08	-0,12	-0,11	-0,03	-0,07	0,02	-0,01	0,05	0,06	0,03	-0,08	-0,12	-0,27	-0,27	0,10	-0,14	-0,01	1,00	

8.4 CONCLUSÃO

Nas condições deste experimento conclui-se que a bactéria do gênero *A.brasilense* promove incremento no rendimento de grãos, tanto para a aplicação via TS como para sulco de semeadura. A aplicação de bioestimulante reduz o rendimento de grãos, assim, há a necessidade de mais estudos sobre o efeito do bioestimulante na cultura do milho, para a região centro-sul do Paraná.

8.5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BALBINOT JR., A. A.; BACKES, R. L.; ALVES, A.C.; OGLIARI, J. B.; FONSECA, J. A. da.. Contribuição de componentes de rendimento na rendimento de grãos de grãos em variedades de polinização aberta de milho. **Revista brasileira de Agrocência**, v.11, n. 2, Pelotas, RS, 2005. p. 161-166.

BARASSI, C.A.; SUELDO, R.J.; CREUS, C.M.; CARROZZI, L.E.; CASANOVAS, W.M.; PEREYRA, M.A. Potencialidad de Azospirillum en optimizar el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina*. Argentina: **Asociación Argentina de Microbiología**, 2008. p.49-59.

BARTCHECHEN, A.; FIORI, C.C.L.; ALVES, O.R.; ROSA, F.R.T.. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* na rendimento de grãos da cultura do milho. **Anais...** Anais do CONCCEPAR, PR, 2011.

BARROS NETO, C. R. de. **Efeito do nitrogênio e da inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* no rendimento de grãos de milho**. 2008. 29 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná.

BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J.J.; LEYVA, L.A.; HERNANDEZ, J.-P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, v.42, p.279-285, 2006

BODDEY, R.M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent progress and perspectives for the future. **Fertilizer Research**, Oxford, v.42, p.241-250, 1995.

CASTRO, P.R.C; VIEIRA, E.L. Aplicação de reguladores vegetais na agricultura tropical. **Agropecuária**. RS, 2001.

CAVALLET, L.E.; PESSOA, A.C.S.; HELMICH, J.J. et al. Rendimento de grãos do milho

em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.1, p.129-132, 2000.

DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O; KENNER, M.H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasiliense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.16, n.9, p.645-651, 1996.

DÖBEREINER, J.; DAY, J. M.. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: NEWTON, W. E.; NEYMAN, C.T.(Ed.). **Nitrogen fixation**. Pullman: Washington State University, Washington, v.2. 1976. 518-538p.

FANCELLI, A.L.. Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes na cultura de milho. **IPNI. Informações Agronômicas**, n. 131. Piracicaba, SP, 2010. 24p. ()

FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D. Produção de milho. Guaíba: **Agropecuária**, 2000. 360p.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Nobel, 1990. 468p.

FERREIRA, L.A; OLIVEIRA, J. A; PINHO, E. V. R. V; QUEIROZ, D. L.. Bioestimulante e fertilizante associados ao tratamento de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**. Vol. 29 nº 2, p. 80-89. 2007.

HARTMAN, A.; ZIMMER, W.. Physiology of *Azospirillum*. *Azospirillum* Plant Associations (OKON, Y., Ed), **CRC Critical Reviews in Plant Science**, Boca Raton, 1994.

HUNGRIA, M. inoculação com *Azospirillum* brasilense: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: **Embrapa Soja**, 2011. 36p.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ -IAPAR. **Cartas climáticas do Paraná**. Online. Disponível em:<<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=863>>. Acesso em: 10 jun. 2012.

LANA, M. C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E.. Inoculação com *Azospirillum*, associada à adubação nitrogenada, na cultura do milho. **Revista Ceres**. vol.59, n.3, 2012. p. 399-405.

MORAIS, T.P de. **Adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasiliense* em híbridos de milho**. Dissertação apresentada a Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG, 2012. 83p

MOURA, R. S.. Lâminas de água, inoculação de sementes com *Azospirillum brasiliense* e doses de nitrogênio em arroz terras. **Relatório**. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Ilha Solteira, SP, 2010.

NEL, P.C.; SMITH, N.S.H. Growth and development stages in the growing maize plant. **Farming in South Africa**, p.1-7, 1978.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants, **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v.63, n.7, p.366-370, 1997.

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

REPKE, R. A.; VELOZZO, M. R.; DOMINGUES, M. C. S.; RODRIGUES, J. D.. Efeitos da aplicação de reguladores vegetais na cultura da alface (*lactuca sativa*) crespa var. verônica e americana var. lucy brow. **Nucleus**, v.6, n.2, out, 2009.

ROWE, J. W. The common and systematic nomenclature of cyclic differences. Madison: **Forest products laboratory**. USDA, 1986.

SALOMONE, G.; DÖBEREINER, J. Maize genotypes effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology Fertilizer Soils**, Oxford, v.21, p.193-196, 1996.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.** 2.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

STOLLER DO BRASIL. Stimulate Mo em hortaliças: **Informativo técnico.** Stoller do Brasil, Divisão arbore, v.1 Cosnópolis, SP, 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E..Plant physiology. Trad. SANTARÉM, E. R., et al. 3.ed, Porto Alegre: **Artmed**, 2012. 722p.

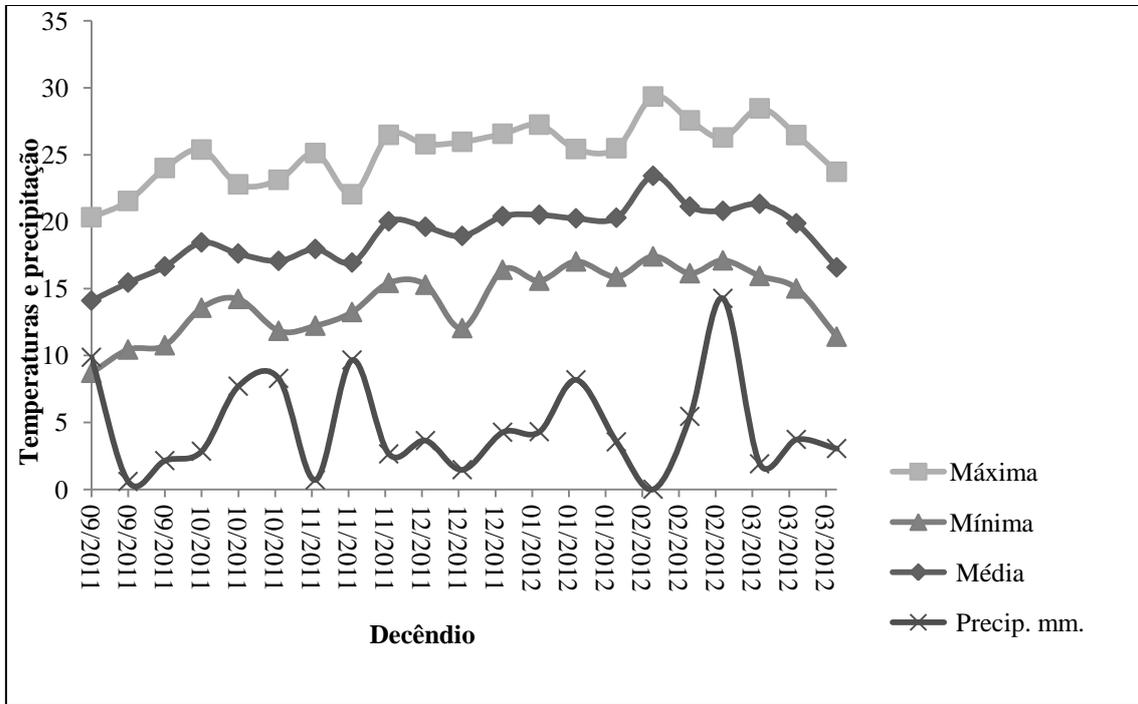
VORPAGEL, A.G.. **Inoculação de *Azospirillum*, isolado e associado a bioestimulante, em milho, no noroeste do RS.** (Trabalho de conclusão de curso – Curso de Agronomia – Departamento de Estudos Agrários da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – UNIJUÍ). Ijuí, RS, jul., 2010.

ANEXO I



Área experimental, safra 2011/12, Fazenda Galo Vermelho. Localizada a 25°33' latitude Sul e 51°29' longitude Oeste e altitude de, aproximadamente, 1100m e a topografia do local é considerada plana. Guarapuava, PR, 2013. (Fonte: <https://maps.google.com.br/maps?hl=pt-BR>)

ANEXO II



Temperaturas máximas, médias e mínimas e precipitação ocorridas durante período do experimento, setembro de 2011 a março de 2012. Guarapuava, PR, 2013.

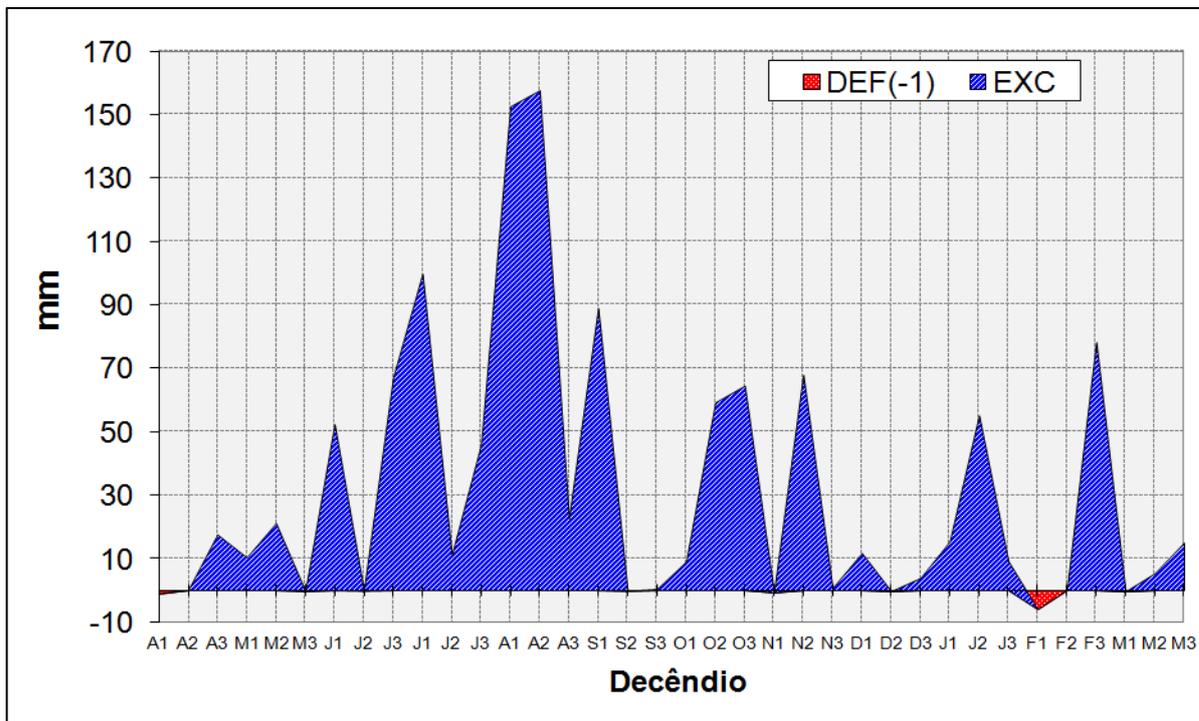
ANEXO III

Resultados de análise química do solo da amostra de 0-10 e 10-20 cm da área utilizada para a condução do experimento. Guarapuava, PR, 2013.

Mehlich											pH 7,0
Gleba (cm)	pH em CaCl₂	g/dm³	mg/dm³	(cmol/dm³)							
		M. O.	P	K	Ca	Ca + Mg	Mg	Al	H + Al	SB	CTC
0-10	4,80	41,61	11,50	0,48	5,01	8,27	3,26	0,00	6,23	8,75	14,98
10-20	4,71	37,58	4,46	0,24	3,52	7,46	3,94	0,08	6,76	7,70	14,46

Gleba (cm)	Saturações (%)					Relação entre cátions		
	Bases V%	Al M%	Ca	Mg	K	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K
0-10	58,42	0,00	33,45	21,77	3,20	1,54	10,44	6,79
10-20	53,26	1,03	24,35	27,25	1,66	0,89	14,67	16,42

ANEXO IV



Extrato do balanço hídrico - Dados coletados na Estação Agrometeorológica do IAPAR, UNICENTRO/CEDETEG 2011/2012, Guarapuava, 2013.