

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Tiago João Tonin

**ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM *Azospirillum
brasilense* NA CULTURA DO MILHO PARA GRÃO E SILAGEM**

PPGZ/UFSM, RS

TONIN, Tiago João Mestre 2016

Santa Maria, RS
2016

Tiago João Tonin

**ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* NA
CULTURA DO MILHO PARA GRÃO E SILAGEM**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia**.

Orientador: Prof^o Dr. Julio Viégas

Santa Maria, RS
2016

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo autor.

Tonin, Tiago João

ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM *Azospirillum* brasileiro NA CULTURA DO MILHO PARA GRÃO E SILAGEM / Tiago João Tonin.-2016.

78 p.; 30cm

Orientador: Julio Viégas

Co-orientador: Thomas Newton Martin

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, RS, 2016

1. Bactérias diazotróficas 2. *Zea mays* L. 3. Foragem conservada 4. Grãos 5. Ureia

I. Viégas, Julio II. Martin, Thomas Newton III. Título.

©2016

Todos os direitos autorais reservados a Tiago João Tonin. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Avenida Roraima. N° 1000, Bairro Camobi, Santa Maria, RS CEP: 97105-900

Email: tiagojtonin@gmail.com

Tiago João Tonin

**ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* NA
CULTURA DO MILHO PARA GRÃO E SILAGEM**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia**.

Aprovado em 22 de fevereiro de 2016:

**Julio Viégas, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)**

Fernando Reimann Skonieski, Dr. (UFFS)

Gilmar Meinerz, Dr. (UFFS)

Santa Maria, RS
2016

AGRADECIMENTOS

Primeiramente aos meus pais, Vasquinho e Ilda, pelo empenho, esforço e amparo desde os tempos em que resolvi sair de casa e seguir a carreira acadêmica. Sem o apoio de vocês não conseguiria chegar até aqui.

Aos meus irmãos, Ademilson e Edson, pelo companheirismo, incentivo e conselhos dados que me ajudaram em meus estudos e a tomar as decisões corretas.

Ao professor Julio Viégas, não somente pelas oportunidades, paciência, ensinamentos e orientação, mas também pela amizade e convivência nestes mais de 5 anos de convívio dentro e fora do NUPECLE.

A minha namorada, Janaina, pelo amor e paciência durante todo o tempo e principalmente pelo amparo. Obrigado por ser a pessoa que sempre esteve junto a mim nas horas que mais precisei.

Agradeço imensamente ao apoio e amizade dos meus colegas de pós graduação do NUPECLE, os quais tenho convivido nestes últimos dois anos, em especial a Guidiane, Alisson e Eduardo.

Aos graduandos em Zootecnia e Veterinária, bolsistas e integrantes, que ainda fazem ou fizeram parte do grupo NUPECLE. Vocês foram o pilar de sustentação para que o trabalho pudesse ocorrer até o final. Em especial cito as Zootecnistas Rotchyelly, Letícia, Stela e Melissa; aos graduandos em Zootecnia Lisiani, Suellen, Ana Carolina, Laura, João, Márcio e Jucielli e as graduandas em Medicina Veterinária Eduarda e Janine.

Agradeço ao professor e co-orientador Thomas Martin da UFSM, pela disponibilidade da área e suporte no experimento a campo.

Agradeço imensamente ao ex-colega de pós graduação e professor da UFFS, Fernando Reimann Skonieski, por todo apoio durante a condução do experimento e tabulação dos dados, além da possibilidade de inserção no presente projeto de pesquisa.

Não poderia deixar de citar em meus agradecimentos, o senhor Gentil Tonin, grande amigo e tio, a pessoa que abriu as portas em Santa Maria para que eu pudesse iniciar o curso superior e conseqüentemente chegar até o presente trabalho.

Finalmente, agradeço a CAPES pela bolsa de estudos concedida em meu mestrado e a UFSM pela estrutura cedida e oportunidade.

A todos, muito obrigado por tudo.

“É fundamental diminuir a distância entre o que se diz e o que se faz, de tal maneira que num dado momento a tua fala seja tua prática.”

(Paulo Freire)

RESUMO

ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* NA CULTURA DO MILHO PARA GRÃO E SILAGEM

AUTOR: Tiago João Tonin
ORIENTADOR: Julio Viégas

Tendo em vista a utilização da cultura do milho para diversos fins, principalmente para alimentação animal na forma de silagem ou grãos para compor rações, este trabalho avaliou os efeitos da adubação nitrogenada em diferentes doses (0, 60, 120, 240 e 480 kg ha⁻¹ de N) na forma de ureia, associada à utilização de híbridos de diferentes propósitos inoculados com *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6. Avaliou o desenvolvimento, produtividade das plantas para silagem, bem como o valor nutritivo da mesma, além da estrutura morfológica e a produtividade de grãos. O cultivo da área experimental foi realizado em duas safras agrícolas, safra 2013/2014 e safra 2014/2015, tendo a semeadura realizada no mês de outubro, a colheita para silagem no final do mês de janeiro e início de fevereiro e a colheita de grãos no mês de março, em ambos os anos. A inoculação com *A. brasilense* incrementou a produtividade de matéria seca de silagem por hectare, elevou o teor de MS no momento da ensilagem, aumentou a participação de espigas na massa ensilada, diminuiu o teor de hemicelulose e cinzas na silagem e elevou a capacidade tamponante da forragem. Ainda, a inoculação apresentou interação com os híbridos utilizados aumentando a sua produtividade e alterando o percentual de colmo ensilado. Adubações a partir de 120 kg ha⁻¹ de N são suficientes para elevar potencialmente a produtividade da cultura para silagem. A utilização de híbridos de fins silageiros é a mais indicada, visto a maior produtividade de biomassa sem alterações significativas na qualidade da silagem. Para produção de grãos houve interação significativa entre a inoculação com *A. brasilense* com o híbrido AS 1572 onde foi encontrada maior produção de grãos (uma tonelada ha⁻¹), sendo o aumento associado ao acréscimo do número de grãos por espiga. O híbrido com finalidade de produção de grãos, o AG 9030, apresentou maior massa de grãos, quando comparado ao híbrido com fins mistos, o AS 1572. A adubação nitrogenada incrementou a produtividade da cultura por elevar a massa dos grãos. A inoculação não provocou efeitos na estrutura morfológica externa das plantas.

Palavras-chave: Bactérias diazotróficas. Fixação biológica. Forragem. Grãos. Ureia.

ABSTRACT

NITROGEN FERTILIZATION AND INOCULATION WITH *Azospirillum brasilense* ON CORN CROP FOR GRAIN AND SILAGE

AUTHOR: TIAGO JOÃO TONIN
ADVISOR: JULIO VIÉGAS

In view of the use of corn for various purposes, principally for animal feed in the form of silage or grain to make animal feed, this work aimed to evaluate the effects of nitrogen fertilization in different doses (0, 60, 120, 240 and 480 kg h N⁻¹) in the form of urea, in association of different purposes hybrids and inoculated with *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6. Were evaluated the development, plant silage productivity, nutritional value, morphological structure and grain yield. The experimental area was carried out in two agricultural crops, 2013/2014 and 2014/2015, sowed in October, harvest for silage at the end of January and early February and grain harvest in March, in both years. Inoculation with *A. brasilense* increased silage productivity (dry matter per area), improved the dry matter content at ensiling, increased the corn cob contents in the silage, decreased the hemicelulose content and ash and increased the buffering capacity of forages. The inoculation had interaction with hybrids used increasing their productivity and changing the stem percentage ensiled. Fertilizations from 120 kg ha⁻¹ N are enough to potentially raise the productivity of the crop for silage and combined with hybrids of silage purposes are more appropriate, as the largest biomass productivity without significant changes in the silage quality. For grain yield, significant interaction between inoculation with *A. brasilense* and AS 1572 hybrid was founded, increasing grain production (1 ton ha⁻¹) and it was associated with the increment in number of grains per cob. The hybrid with grain production purpose, the AG 9030, showed higher grain mass, compared to hybrids with mixed purposes, AS 1572. Nitrogen fertilization increased the crop yield by raising the grain weight. Inoculation caused no effects on the external morphological structure of plants.

Keywords: Biological fixation. Diazotrophs. Forage. Grain. Urea.

LISTA DE FIGURAS

APRESENTAÇÃO

- Figura 1- Produção dos principais países produtores de milho no mundo em 2013, segundo a Food and Agriculture Organization (FAO) 16
- Figura 2- Modelo simplificado da cadeia produtiva do milho a nível mundial. 17
- Figura 3- Produtividade e produção total e média regional e nacional de milho da safra brasileira 14/15 segundo dados compilados da CONAB, levantamento de setembro de 2015 18

ARTIGO 1

- Figura 1- Médias climatológicas mensais da área experimental nos dois anos de cultivo do milho para ensilagem 29
- Figura 2 - Produção de forragem dos diferentes híbridos de milho (A), inoculados com *Azospirillum brasilense* (B) e submetidos a doses crescentes de adubação nitrogenada em cobertura 36
- Figura 3- Interação entre inoculação e doses de nitrogênio no teor de Hemicelulose (% da MS) da silagem de milho 38
- Figura 4- Interação entre doses de nitrogênio e cultivares de milho sobre o teor de FDA (% na MS) de silagens de milho 39
- Figura 5- Proteína bruta (% na MS) em silagens de planta inteira de milho fertilizadas com doses crescentes de N 40

ARTIGO 2

- Figura 1- Médias climatológicas mensais da área experimental nos dois anos de cultivo para produção de grãos 50
- Figura 2- Produção (A) e massa de mil grãos (B) corrigidos a 13% de umidade de híbridos de milho submetidos a diferentes doses de N em cobertura 57

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1- Análise química do solo da área experimental nos dois anos de cultivo, Santa Maria, RS.....	29
Tabela 2- Acúmulo de biomassa total (Kg de MS ha ⁻¹) em diferentes estádios fenológicos de híbridos de milho submetidos à inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i>	34
Tabela 3- Efeitos dos diferentes híbridos e inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> sobre o teor de MS, peso de planta e participação de folhas e espigas na forragem de plantas de milho para silagem.....	35
Tabela 4- Interação entre a inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> e híbridos de milho na participação percentual de colmo sobre o percentual total de componentes botânicos na MS das plantas no momento da ensilagem	35
Tabela 5- Qualidade fermentativa de silagens de milho de diferentes híbridos inoculados com <i>Azospirillum brasilense</i>	37
Tabela 6- Efeitos dos tratamentos cultivares e inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> sobre a qualidade nutricional da silagem.....	41

ARTIGO 2

Tabela 1- Análise química do solo da área experimental nos dois anos de cultivo, Santa Maria, RS.....	50
Tabela 2- Efeitos da interação entre cultivares e inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> sobre a produção de grãos, peso de 1000 grãos, número de grãos por fileira e número de grãos por espiga (gr)	55
Tabela 3- Efeitos dos diferentes híbridos e a inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> sobre o comprimento de espiga (Comp.esp) altura da espiga (Alt.esp), altura da planta (Alt.pla) e diâmetro do colmo (D.col), ambos em cm ⁻¹ , diâmetro de espiga (Diam.esp) em mm ⁻¹ e prolificidade (Prol) em %	58

SUMÁRIO

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS	12
1.1. INTRODUÇÃO.....	12
1.2. HIPÓTESES.....	14
1.3. OBJETIVOS.....	14
1.3.1. Objetivo geral	14
1.3.2. Objetivos específicos	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. A CULTURA DO MILHO NO CONTEXTO GERAL.....	15
2.2. ADUBAÇÃO NITROGENADA	19
2.3. BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DAS PLANTAS.....	22
2.4. <i>AZOSPIRILLUM</i> SPP	24
3. ARTIGO 1 – SILAGENS DE HÍBRIDOS DE MILHO INOCULADOS COM <i>Azospirillum brasilense</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES DOSES DE NITRÔGENIO .	26
INTRODUÇÃO	27
MATERIAL E MÉTODOS	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
4. ARTIGO 2 - PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO INOCULADOS COM <i>Azospirillum brasilense</i> E FERTILIZADOS COM DOSES DE NITRÔGENIO	47
INTRODUÇÃO	48
MATERIAL E MÉTODOS	49
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
5. DISCUSSÃO GERAL	64
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
7. REFERÊNCIAS	67
ANEXO A: NORMAS PARA SUBMISSÃO DE TRABALHOS PARA REVISTA CAATINGA	72
APÊNDICE A: CROQUI DA ÁREA EXPERIMENTAL	78

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1. INTRODUÇÃO

Frequentemente associado à produção consorciada ou de subsistência, no Brasil, o milho (*Zea mays* L.) passou a ser um dos principais produtos agropecuários, com alto pacote tecnológico desenvolvido e empregado para sua produção (SOUZA; BRAGA, 2004). Ponto de destaque é a possibilidade, em algumas regiões, da realização de mais de uma safra por ano e o seu papel no contexto sustentável da rotação de culturas e sistemas de integração, com destaque para o sistema lavoura-pecuária. Este cereal é um dos principais insumos utilizados na agroindústria brasileira, pois faz parte essencial na fabricação de rações destinadas a alimentação animal, principalmente para a avicultura e suinocultura (PINAZZA, 1993). A utilização desta espécie também é muito importante para a utilização na confecção de silagens de planta inteira destinada a produção de carne e leite colaborando para colocar o País como um dos principais produtores e exportadores mundiais de proteína animal.

Ponto indiscutível associado ao avanço produtivo e que faz parte deste pacote tecnológico é o melhoramento genético avançado das cultivares e híbridos, voltadas à máxima produtividade e uso em sistemas intensivos de produção. Acrescenta-se ao pacote tecnológico a utilização da adubação nitrogenada que possui grande importância no aumento da produtividade e sustentabilidade (COELHO, 2006), principalmente econômica e social dos sistemas produtivos. Embora existam inúmeras pesquisas estudando os efeitos da adubação nitrogenada em milho, evidencia-se que muitos fatores podem interferir no aproveitamento deste nutriente. Dentre estes fatores, podem-se incluir como importantes e influentes as condições edafoclimáticas, variantes entre locais e anos de produção, material genético utilizado, fontes de nitrogênio e tratos culturais (LARA CABEZAS, 2000).

A utilização de grandes quantidades de N durante o ciclo do milho não garante uma resposta linear sobre a produtividade de grãos e silagem, visto que muitas variáveis podem interferir na resposta da cultura e geralmente apenas 1/3 do nitrogênio aplicado é aproveitado pela cultura. O excesso da adubação que não é aproveitada pela cultura ou até mesmo condições ambientais desfavoráveis, principalmente quando aplicado em cobertura ocasionam perdas deste nutriente ao meio e conseqüentemente a poluição ambiental e diminuição da rentabilidade (ARAÚJO; HUNGRIA, 1994).

Pesquisas têm sido direcionadas no sentido de melhorar a eficiência da utilização do nitrogênio, e também, na tentativa de substituir os fertilizantes químicos nitrogenados diminuindo a dependência externa de insumos. Neste contexto, a fixação biológica do nitrogênio realizada pelas bactérias do gênero *Rhizobium* é um processo interessante e de extrema importância. Apesar de extremamente importante como fixador de N atmosférico, os microrganismos do gênero *Rhizobium* possuem relação de mutualismo apenas com espécies leguminosas. A descoberta de microrganismos associativos as raízes e outros tecidos de gramíneas mudaram este cenário, muitas pesquisas têm sido realizadas no intuito de compreender esta associação e seus efeitos sobre a produtividade das gramíneas (BADRI, 2009).

As bactérias do gênero *Azospirillum* são de vida livre e possuem capacidade de se associarem às raízes de gramíneas, incluindo o milho, com efeitos benéficos sobre o aproveitamento de nutrientes e fixação de N (STEENHOUDT; VANDERLEYDEN, 2000). Dentro desse destaca-se a espécie *Azospirillum brasilense* como importante microrganismo associativo a cultura do milho. Os benefícios desta espécie podem ocorrer de forma direta e indireta, dentre estes se pode citar a fixação biológica do N, produção de fitormônios, solubilização de fosfato inorgânico, melhor desenvolvimento radicular e resistência a doenças (DOBBELAERE; OKON, 2007). Estes fatores quando ocorrem de forma isolada ou em conjunto podem incrementar a produtividade da cultura de milho (grãos ou silagem) e diminuir a dependência de fertilizantes químicos.

1.2. HIPÓTESES

A inoculação com *Azospirillum brasilense* nas sementes de milho contribui para o incremento da produtividade da cultura para fins de produção de grãos e silagem.

A inoculação com *A. brasilense* altera a composição morfológica das plantas de milho, influenciando na composição bromatológica das silagens e características agronômicas ligadas à produção de grãos.

A inoculação pode alterar os padrões de produção de acordo com o híbrido utilizado e as diferentes doses de N aplicadas em cobertura.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos da inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 associado a diferentes doses de nitrogênio aplicadas em cobertura sobre o desenvolvimento da cultura, produtividade de grãos, produção e qualidade da silagem.

1.3.2. Objetivos específicos

Quantificar o acúmulo de biomassa e a morfogênese das plantas no momento da ensilagem de dois híbridos comerciais de milho submetidos à inoculação com *Azospirillum brasilense* e a doses de nitrogênio;

Avaliar os efeitos da inoculação, doses de N e cultivares sobre a qualidade bromatológica e fermentativa da silagem;

Estimar a produção de grãos e medir as variáveis agronômicas de produção dos diferentes híbridos submetidos à inoculação e dosagens de N;

Relacionar os efeitos da adubação nitrogenada com os diferentes híbridos e a inoculação com *A. brasilense* sobre as variáveis de produção pesquisadas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A CULTURA DO MILHO NO CONTEXTO GERAL

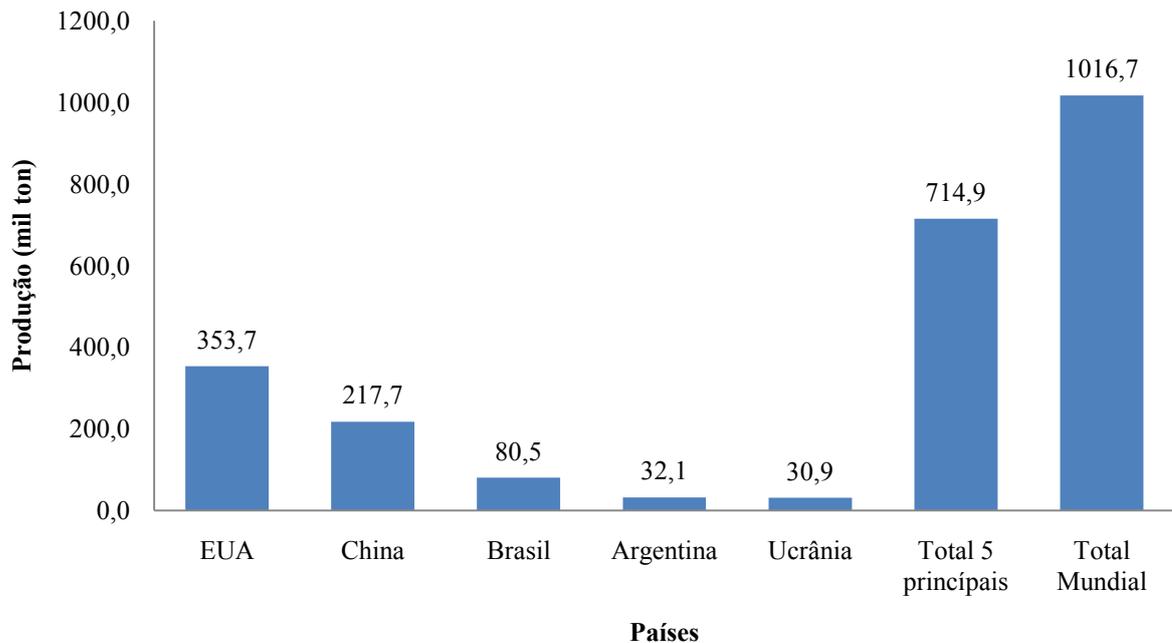
O milho (*Zea Mays* L.) originou-se da América, com achados arqueológicos que vão do Peru ao México e se disseminou para outros países a partir da colonização espanhola de Cristovão Colombo. Este denominou a nova planta de *maize*, originário do nome indígena *mahis*, que em 1737, já plenamente difundido na Europa, foi nomeado de *Zea mays* pelo botânico e naturalista Carl Von Linné (SCHRIMPF, 1966). Juntamente com o trigo e o arroz, o milho é um dos mais importantes cereais cultivados em todo mundo, seja para fins de alimentação animal ou humana. Na alimentação humana responde junto aos dois demais cereais por cerca da metade das necessidades calóricas ingeridas. Com aproximadamente 72% de amido, 10% de proteína e 4% de gordura, é mais energético que os demais cereais, embora tenha menor conteúdo de proteína (RANUM; PEÑA-ROSAS; GARCIA-CASAL, 2014).

A partir da sua disseminação pelo mundo, o milho começou a ganhar formas diferentes e o seu cultivo e consumo se tornou muito variado. Além da cor, pode ser classificado de acordo com seu conteúdo de açúcar e principalmente através da composição do seu endosperma em vítreo e farináceo. Baseados nas características dos grãos estes podem ser classificados em duro (com maior proporção de endosperma vítreo), dentado e farináceo (com maior proporção de endosperma farináceo), pipoca e doce (PAES, 2006). As cultivares do tipo duro e semi-duro são preferíveis para o cultivo devido à maior resistência a pragas e menor perdas no armazenamento e processamento, embora apresentem menor digestibilidade devido às características do endosperma vítreo, envolto por uma matriz protéica espessa e contínua, dificultando a ação enzimática (PIOVESAN; OLIVEIRA; GEWEHR, 2011)

Em 2013, segundo a FAO, o milho ocupava uma área de cultivo de mais de 178 milhões de hectares, destacando-se os Estados Unidos da América (EUA), China e Brasil, como detentores dos maiores volumes produzidos, em milhões de toneladas (Figura 1) (FAOSTAT, 2013). Atualmente é o principal cereal produzido no mundo, com volume de produção estimado de mais de 1 bilhão de toneladas na safra 2014/2015 e o quarto em valor econômico bruto (USDA, 2015). A importância deste grão é tão grande nos dois primeiros países produtores, que se algum evento ocorresse afetando significativamente a produção, não haveria no mundo capacidade de repor a produção perdida. Este fato impactaria

significativamente sobre a produção mundial de proteína de origem animal, principal destino do milho produzido atualmente (GALVÃO E MIRANDA, 2004).

Figura 1- Produção dos principais países produtores de milho no mundo em 2013, segundo a Food and Agriculture Organization (FAO)



Fonte: FAOSTAT, 2013

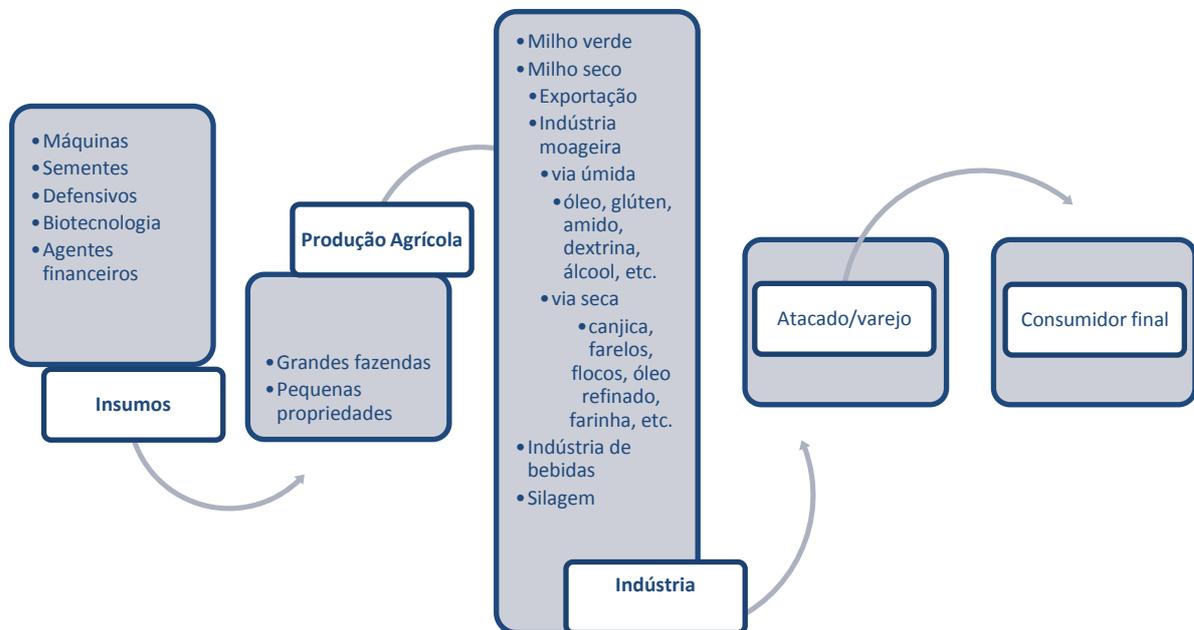
O milho está envolvido em uma cadeia produtiva muito complexa e abrangente e consideravelmente homogênea dentro do agronegócio mundial (Figura 2). Na parte à jusante da cadeia está uma indústria de insumos altamente tecnificada, relacionada a maquinários, sementes e defensivos agrícolas. À montante encontra-se uma indústria de exportação e transformação, que envolve a crescente produção de etanol, principalmente nos EUA, além de uma série de produtos de alto valor agregado que vão desde óleo comestível, amidos, glúten, fibras e suplementos, ração animal, entre outros variados produtos.

No Brasil agrícola até meados do século XX, o cultivo do milho era feito de forma consorciada com outras culturas, principalmente feijão e era visto como cultura de subsistência. Na década de 60, a partir da implantação de novas tecnologias vindas do modelo americano de produção, o milho começou a ganhar espaço e produtividade passando a ser visto como uma cultura de escala comercial. Assim, no cenário atual, o cultivo é feito baseado em tecnologias avançadas, com uso intensivo de insumos, feito principalmente em grandes

propriedades, mas de grande importância socioeconômica em propriedades familiares. Também é de grande relevância na sustentabilidade do sistema produtivo agropecuário, através do consórcio de cultivos e de rotação de cultura, principalmente com a soja, nos sistemas de plantio direto e integração lavoura-pecuária (GALVÃO E MIRANDA, 2004).

No Brasil, por ser um cultivo muito versátil, o milho adaptou-se facilmente aos diferentes sistemas de produção e é semeado em todas as regiões, ocupando a segunda maior área de cultivo de cereais, atrás apenas da soja. No último levantamento da safra agrícola 2014/2015 realizado no mês de setembro de 2015, a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) estimou uma área plantada, incluindo safra e safrinha, de 15.743,7 mil hectares semeados. A produtividade média das lavouras brasileiras ficou em torno dos 5.382 kg ha⁻¹, com aumento de 6,4% em comparação a safra 2013/2014, sendo a safrinha responsável por cerca de 64% da produção. A produtividade média (kg ha⁻¹) e a produção total, bem como os dados regionais estão explícitas na Figura 3 (CONAB, 2015).

Figura 1 - Modelo simplificado da cadeia produtiva do milho a nível mundial.

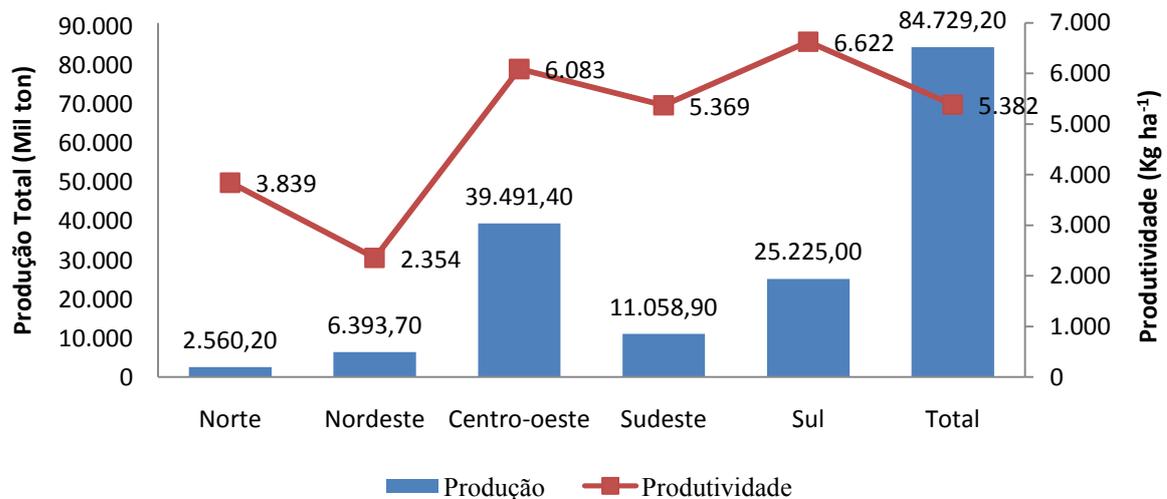


Fonte: autor

Até o mês de outubro de 2015, o maior volume das exportações brasileiras do cereal foi principalmente para países do eixo árabe-asiático, destacando-se Vietnã e Irã com as

maiores demandas. Apesar de ser importante como commodity agrícola, a produção brasileira é destinada principalmente ao mercado interno (cerca de 65%) em especial à produção de rações e concentrados para consumo animal (CONAB, 2015).

Figura 2- Produtividade e produção total e média regional e nacional de milho da safra brasileira 14/15 segundo dados compilados da CONAB, levantamento de setembro de 2015



Fonte: CONAB

Ainda que os índices produtivos brasileiros de milho estejam em crescente, ainda estão aquém de níveis de competitividade mundial, como o dos EUA que conseguem produzir média de mais de 10.500 kg ha⁻¹. Ainda dependemos de maiores investimentos em irrigação e outras tecnologias que possam aumentar o volume produzido por área, com maior eficiência do uso de insumos, principalmente solo, água e fertilizantes.

Como forrageira, através da silagem de planta inteira, o milho consegue aliar elevado valor energético, boa digestibilidade, adequado valor protéico e com uma apropriada composição de fibra, desde que colhido, ensilado, armazenado e fornecido adequadamente aos animais (CALONEGO et al., 2011). Nos EUA, por exemplo, a silagem de milho é a principal forragem utilizada na pecuária leiteira, sendo um fator importante na intensificação dos sistemas de produção de leite (AKINS; SHAVER, 2014). Ademais, é importante fonte de fornecimento de fibra fisicamente efetiva (FDNfe) e energia ao rebanho leiteiro, através da participação do amido, que pode representar 50% da energia na silagem de milho de planta inteira (FERRARETTO; SHAVER, 2012).

No Brasil, a silagem de milho também é a silagem preferida pelos criadores, mas principalmente a cultura é a favorita pelos pecuaristas leiteiros, segundo um dos poucos e mais recente levantamentos sobre uso e produção de silagem no Brasil (BERNARDES, 2012). O que qualifica esta espécie na produção de silagem é também o valor nutricional e a produção por área, mas também há de se considerar como pontos fortes a tecnologia de produção já estabelecida e adaptabilidade do cultivo. Além disso, soma-se o fato de que pode ser utilizado tanto para ensilagem de planta inteira quanto para silagem de grãos úmidos.

Durante anos, pesquisadores ao redor do mundo têm buscado compreender as melhores condições para produção de silagens de milho com alta qualidade e produtividade a fim de se obter melhor conversão animal. Dentre os itens pesquisados está a escolha do híbrido a ser utilizado para ensilagem. Estes estudos têm concluído que o tipo de híbrido utilizado pode influenciar fortemente na qualidade nutricional da silagem devido a alterações na digestibilidade e componentes da parede celular, no teor de matéria seca, proteína bruta, rendimento de produção, participação de grãos na massa ensilada, teor e digestibilidade do amido, quantidade de óleo presente nos grãos, entre outros, que influenciam diretamente a produção e composição dos porcentuais de gordura e proteína no leite (BAL et al., 2000; BALLARD et al., 2001; FERREIRA et al., 2011; ARRIOLA et al., 2012; FERRARETTO; SHAVER, 2015).

2.2. ADUBAÇÃO NITROGENADA

Juntamente com o carbono (C), oxigênio (O) e hidrogênio (H), o nitrogênio (N) é um dos elementos mais requerido pelos seres vivos e encontrado em grande quantidade na atmosfera (78%). Entretanto, a sua disponibilidade de uso é baixa, devido à tripla ligação que existe entre os dois átomos do N_2 . Embora o N seja o elemento mais abundante na atmosfera terrestre, menor quantidade é encontrada nos solos na forma de matéria orgânica (MARIN et al., 2003; HUNGRIA, 2011).

No solo ele se encontra nas formas de mineral orgânico ou inorgânico, sendo que aproximadamente 95% do N do solo se encontra na primeira forma, o qual não está prontamente disponível para o uso das plantas. O N orgânico sofre várias reações no ambiente, as quais o transformam em outros compostos. Destas, destacam-se a fixação biológica, mineralização ou amonificação, imobilização e a assimilação do nitrato NO_3^- a N orgânico. A forma inorgânica na qual este nutriente fica disponível no solo é a de nitrato NO_3^-

. Para que haja a disponibilização do N orgânico para as plantas é necessário que este passe por um processo de mineralização que resultará na formação do N na forma amoniacal (NH_4^+ e NH_3). As principais formas de perdas deste elemento para o ambiente são a volatilização (amônia) e lixiviação (nitrato). A lixiviação tende a ser maior em solos arenosos enquanto que a volatilização depende mais do pH e do aumento da temperatura (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Na nutrição de plantas, excetuando-se o C, O e H, o N participa dentro da categoria dos macroelementos, dentro dos 13 elementos essenciais – incluído os microelementos. É essencial, pois participa diretamente do metabolismo formando compostos como aminoácidos e proteínas, amidas, aminas, aminoaçucars, purinas e pirimidinas, alcalóides, coenzimas, vitaminas e pigmentos. Nas plantas, o N se encontra normalmente em equilíbrio, entretanto com sua carência este é direcionado dos tecidos mais velhos para os mais jovens, manifestando o sintoma claro de deficiência, a clorose (MALAVOLTA, 1985)

As plantas absorvem preferencialmente a maior parte do N na forma nítrica, entretanto plantas não fixadoras também se beneficiam do N na forma íon amônio quando este estiver em grande quantidade no solo, pois o nitrato precisa ser reduzido à amônia depois de absorvido pelas plantas, o que causa gasto de energia. O N amoniacal (NH_4^+), sendo um íon de carga elétrica positiva, além de assimilável pelas plantas, possui a vantagem de se fixar às partículas coloidais do solo, principalmente às partículas de argila que são carregadas negativamente na periferia. Por essa razão seu aproveitamento pelos vegetais é maior. O N nítrico (NO_3^-) é totalmente solúvel em água e de aproveitamento imediato pelas plantas. Sendo um íon negativo, não se fixa nas argilas e é facilmente arrastado pelas águas de infiltração (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Dentre os fatores que podem comprometer a produtividade de grãos e silagem de milho destaca-se o nitrogênio (N), por ser um dos nutrientes absorvidos em grande quantidade, essencial ao crescimento das plantas e o que mais frequentemente limita o potencial produtivo (LEMAIRE; GASTAL, 1997). Dessa maneira, o emprego de tecnologias, como a aplicação de ureia, sulfato de amônio e outros compostos nitrogenados é importante, pois pode ser fundamental para o aumento da produtividade e da sustentabilidade dos sistemas de produção. No entanto, o uso indiscriminado e o manejo incorreto podem agravar questões pertinentes, como as que se referem a produção sustentável ligada a poluição do meio ambiente. A sustentabilidade é atingida quando juntamente com o uso do N utilizam-se outras técnicas de manejo, que maximizem a relação quantidade produzida por área em produto animal final, carne ou leite e minimizem a perdas para o meio (CECATO et. al., 2011).

As fontes de N industriais, além de serem produtos obtidos com a queima de combustíveis fósseis, quando aplicadas na lavoura estão susceptíveis a elevadas perdas por volatilização e lixiviação, sendo que esta última perda pode representar contaminação de águas superficiais e subterrâneas. Quantidade elevadas de aplicação podem causar os danos acima citados, além de aumentar os custos de produção, sem retorno em produtividade. Quantidades de N abaixo do necessário, causam redução nos níveis de produtividade, levando a menor sustentabilidade do sistema de produção. Fica claro, que é necessário estabelecer os níveis ideais de aplicação de N em cada cultura, para diminuir as perdas para o meio e garantir a quantidade necessária afim de não limitar o desempenho produtivo.

Sistemas de recomendação para aplicação de N de cobertura na cultura do milho nos estado do Rio Grande do Sul e Santa Catarina são baseados principalmente na quantidade de matéria orgânica (MO) presente no solo, com aumento das doses linearmente a quantidade de produção desejada, seja para produção de grãos ou forragem (CQFS-RS/SC, 2004). Entretanto, Cecato et al. (2011), recomendam que a quantidade de adubação nitrogenada que deve ser usada esteja de acordo com a produção que se pretende atingir. Segundo os autores uma grande quantidade de matéria orgânica no solo (MOS) pode conter uma relação C/N muito alta e o fertilizante aplicado acaba sendo usado pelos microrganismos do solo para formação de suas estruturas celulares.

Ademais, Fontoura e Bayer (2009), recomendam sistemas mais específicos de adubação nitrogenada na cultura do milho que levem em conta a expectativa de rendimento de acordo com a demanda da cultura, teor de MOS a qual se relaciona com a disponibilidade de N para as plantas, a cultura que antecedeu o cultivo e a eficiência do fertilizante aplicado. O fertilizante a ser escolhido deve ser o que tende a apresentar menor quantidade de perda possível, que é influenciada principalmente pelas características edafoclimáticas da época de cultivo. Outro fator importante é que seja feito parcelamento das doses a serem aplicadas, decisivo para minimizar as perdas. Doses que variam de 50 a 60 kg/ha/ano podem ser aplicadas de uma só vez, até 120 kg/ha/ano duas vezes e valores acima, três a mais vezes, dependendo da quantidade total a ser aplicada. A complexa relação do N com o tripé solo – planta – atmosfera, dificulta a elaboração de modelos confiáveis de recomendação de adubação nitrogenada para as culturas (DE PADUA CRUZ; CABEZAS, 2007).

Com implantação do sistema de plantio direto bem definido no Brasil, a quantidade de N que deve ser aplicada em cobertura é variável e dependente da cultura antecessora. Silva et al. (2010), em Latossolo, recomendaram a aplicação de 205 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia em

cobertura quando o manejo for em resíduo de aveia preta, 175 kg ha⁻¹ quando utilizada a cobertura com nabo forrageiro e sem respostas a adubação com milho semeado sobre palhada de ervilhaca, tendo esta a maior produtividade de grãos. Cabezas et al. (2004), encontraram maior produção relacionada a maior disponibilidade de N quando o milho foi plantado sobre resíduo de milheto, quando comparado ao nabo forrageiro.

O incremento da adubação nitrogenada em cobertura acrescentou maior número de fileiras por espiga, número de grãos por fileiras, quantidade grãos por espiga, maior massa de mil grãos e produtividade de grãos e teor protéico dos grãos com doses crescentes de N (AMARAL FILHO et al., 2005; SOUZA, et al., 2011). Além do incremento da produtividade, a adubação nitrogenada influi positivamente na altura da planta e na altura da inserção de espiga, embora essa variação possa ser influenciada também pelas características de cada híbrido e densidade de plantio (GROSS; VON PINHO; BRITO, 2006).

A aptidão das plantas em produzir biomassa, incluindo a cultura do milho para silagem, depende do suprimento de condições ótimas de energia solar, água, temperatura e nutrientes. Em culturas agrícolas existem maneiras de se manipular o fornecimento de parte dessas condições para alcançar a maximização da produção das culturas de acordo com o genótipo disponível. Com exceção da água, o Nitrogênio (N) é o nutriente que mais influência no crescimento das plantas (BRISKE; HEITSCHMIDT, 1991).

O fornecimento de N na agricultura acontece primariamente pela fertilização química, mas deve-se destacar o papel essencial da fixação biológica. Arqueobactérias e bactérias que fazem parte da biota do solo, através da presença da enzima nitrogenase, rompem a tripla ligação e reduz o N₂ a amônia, podendo ser aproveitada pelas plantas. Estas bactérias possuem a capacidade de se associarem as plantas através de processos como colonização das raízes, rizosfera e tecidos (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007; HUNGRIA et al., 2010). Dentre os gêneros de bactérias desta classe, as mais conhecidas são as bactérias que colonizam as raízes das plantas através da associação com a rizosfera, as do gênero *Rhizobium*. Estes microrganismos mantêm um importante papel ecológico na relação planta-solo, fixando nitrogênio (N) atmosférico através da simbiose com plantas leguminosas (MOREIRA et al., 2010).

2.3. BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DAS PLANTAS

As bactérias promotoras de crescimento das plantas compreendem um grupo seletivo de microrganismos procariotos diazotróficos, que tem a capacidade de colonizar os tecidos e as células das plantas e estimular o seu crescimento por vários mecanismos. São microrganismos diazotróficos ou rizobactérias promotoras de crescimento vegetal de vida livre ou associativa, que se integram ao sistema radicular das plantas. Como exemplo deste tipo de microrganismos tem-se as espécies *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Pseudomonas*, entre outras (HAYAT et al., 2010).

A perda da diversidade desses microrganismos, leva aos sistemas agrícolas uma modificação na biota do solo, alterando toda a cadeia trófica. Isto transforma alguns processos vitais no solo como a decomposição da matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes, levando a dependência de maior quantidade de fertilizantes químicos (HAYAT et al., 2010; MOREIRA et al., 2010). De acordo com Hayat et al. (2010), estas bactérias são encontradas em uma grande área cultivada ao redor do mundo contribuindo no incremento da produtividade de diversas culturas agrícolas.

Estes microrganismos têm sido estudados em vários ramos da agricultura, devido a sua importância no ciclo biogeoquímico e como determinante nos padrões de fitossanidade e fertilidade dos solos. Estudos recentes têm utilizado estas bactérias para descontaminação de solos poluídos através da mineralização da matéria orgânica (ZHUANG et al., 2007). Na área agrícola, elas têm sido utilizadas na mobilização, transformação e posterior absorção pelas plantas dos nutrientes presentes no solo. Biologicamente, estes seres são considerados como aditivos para fertilizantes químicos no intuito de melhorar o rendimento das culturas agrícolas e desenvolver sistemas agrícolas de produção mais sustentáveis (HAYAT et al., 2010).

A colonização das raízes das plantas por bactérias envolve uma série de artifícios que a planta realiza no intuito de atrair estes microrganismos. Dentre os compostos atrativos estão açúcares, polissacarídeos, aminoácidos, ácidos aromáticos, ácidos alifáticos, ácidos graxos, esteróis, fenóis, enzimas, proteínas, reguladores de crescimento e metabólitos secundários. Dentre estes supracitados, compostos fenólicos – principalmente flavonóides – são a peça chave na atração dos microrganismos para estabelecer a interação com as plantas (BADRI et al., 2009).

Dentre os principais benefícios que as bactérias promotoras de crescimento das plantas trazem, podemos destacar a fixação de nitrogênio, o aumento da atividade da redutase, síntese de hormônios, fornecimento de nutrientes as plantas, proteção contra patógenos, entre outros (DAVISON, 1988). Ainda, pode ser uma alternativa a utilização de fertilizantes nitrogenados,

os quais têm contribuído significativamente para o aumento da emissão dos gases de efeito estufa (N_2O) e a lixiviação das águas subterrâneas (BHATTACHARJEE et al., 2008).

A capacidade de fixação de N destas bactérias é variável. Morais et al. (2012) estudando isolados em capim elefante encontrou capacidade de fornecer de 36 a 132 kg N ha⁻¹ ano, 18 a 70% da demanda das plantas. Hungria et al. (2010) concluíram que a inoculação forneceu de 16 a 30% no N requerido pela milho e de 9 a 18% para o trigo. Em pastagem de *Brachiaria decumbens* a fixação biológica de N foi responsável por 30 a 45 kg N ha⁻¹ ano (BODDEY; VICTORIA, 1986). Döbereiner; Day; Dart (1973) encontraram 15 a 93 Kg N ha⁻¹ ano em *Paspalum notatum* até 50 Kg N ha⁻¹ ano em cana de açúcar.

A eficiência destas bactérias em se multiplicarem na biota do solo e fixarem N é heterogênea e depende de vários aspectos relacionados ao manejo, genótipo e meio (MOREIRA et al., 2010). Fator chave é a interação genótipo – estirpe e a relação da atividade da nitrogenase com a espécie. A presença de grandes quantidades de adubação a base de N pode reprimir o processo de fixação biológica do N. Da mesma forma a presença de O₂ no solo é importante para a multiplicação do número de bactérias diazotróficas presentes na biota do solo (BALDANI; BALDANI, 2005).

2.4. *AZOSPIRILLUM* SPP

O gênero *Azospirillum* foi descoberto no fim da década de 70 a partir de avanços nos estudos com *Spirillum*, estes isolados inicialmente por Beijerinck em 1925 em solo pobre e arenoso na Holanda (BASHAN; LEVANOVI, 1990). Inicialmente foram descobertos os gêneros *A. lipoferum* e *A. brasilense* e mais tarde foram descobertos também *A. amazonense*, *A. halopraeferense* e *A. irakense* (BALDANI; BALDANI, 2005). Este gênero caracteriza-se por ser de vida livre, são reconhecidos por sua importância agrônômica e ecológica e foram encontradas na rizosfera de diversas gramíneas tropicais e temperadas ao redor do mundo (HUNGRIA et al., 2010).

Os efeitos das bactérias do gênero *Azospirillum* sobre a fisiologia das plantas incluem crescimento radicular, absorção de água e minerais, tolerância ao estresse hídrico, aumento do vigor e produtividade e fixação de N. Estes efeitos são consequência da produção de fitormônios em associação com espécies não leguminosas (STEENHOUDT; VANDERLEYDEN, 2000). Tien et al. (1979) estudando os efeitos de *Azospirillum*

brasilense, no crescimento de plantas de milho, concluíram que este gênero foi responsável pela produção de ácido indolil-3-acético (auxina), giberelinas, citocininas.

As auxinas sintetizadas nas regiões de crescimento ativo controlam o crescimento das plantas, mais especificamente no crescimento e alongamento do caule, crescimento das folhas, raízes, iniciação da atividade cambial em plantas lenhosas com dormência no inverno, dominância apical e reprodução (VÁLIO, 1986). As giberelinas atuam na reprodução, com efeitos benéficos na floração e formação do fruto, atraso na senescência, e principalmente no alongamento do caule e dominância apical (METIVIER, 1986). As citocininas têm papel fundamental na divisão celular, no alongamento das células de vários tecidos inclusive raízes e formação de nódulos de *Rhizobium japonicum*, diferenciação, retardamento da senescência, germinação e papel na resistência a seca (METIEVER, 1986).

A inoculação com *Azospirillum* vem sendo testada ao longo dos anos em varias culturas de interesse econômico, principalmente milho, trigo, cana de açúcar e mais recentemente a co-inoculação com *Rhizobium* em feijão e soja (HUNGRIA et al. 2010; CANUTO et al. 2003; DÖBEREINER; DAY; DART 1973; HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO; 2013).

A resposta na cultura do milho é variada e pode ser medida em produção ou equivalente resposta a aplicação de N. De Salomone; Döbereiner (1996) encontraram resposta positiva com inoculação de *Azospirillum* em duas variedades de milho com incremento da produção equivalente a aplicação de 100 kg de N ha⁻¹. Okon; Itzigsohn (1995) em uma compilação de 20 anos de pesquisa encontraram respostas em produtividade de 5 a 30% através da inoculação. Hungria (2010) trabalhando com estirpes selecionadas encontrou respostas de 16 a 30%; Díaz-Zorita; Fernandez (2008) encontraram produtividade superior de 472 kg ha⁻¹ ano; Cavallet et al. (2000) encontraram aumento de 17% de produtividade.

Segundo Okon; Labandera (1994) em média de 60 a 70% dos estudos com inoculação apresentam sucesso em aumento da produtividade. Alguns trabalhos realizados no Brasil não encontraram respostas positivas na produção de milho com a inoculação (DE GODOY et al., 2011). Os principais efeitos encontrados e que podem incrementar diretamente a produção nos cereais, incluem aumento no número de espigas, grãos por espiga e peso de grãos, além do incremento no tamanho total da planta e das folhas elevando a produção de matéria seca total por área (BASHAN; LEVANOVI, 1990).

3. ARTIGO 1 – SILAGENS DE HÍBRIDOS DE MILHO INOCULADOS COM *Azospirillum brasilense* SUBMETIDOS A DIFERENTES DOSES DE NITRÓGENIO

Resumo

Objetivou-se avaliar os efeitos da inoculação com *Azospirillum brasilense* e distintas doses de nitrogênio, em duas safras agrícolas sobre a produção e qualidade da silagem de híbridos de milho. O experimento foi conduzido nas safras 2013/2014 e 2014/2015, em Santa Maria – RS. Foram utilizados os híbridos AS1572 e AG9030 inoculados com *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 e fertilizados com 0, 60, 120, 240 e 480 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia. Avaliou-se o desenvolvimento da cultura, a produção e a qualidade das silagens. A inoculação aumentou o acúmulo de biomassa de milho para silagem de planta inteira e associada a doses de 120 Kg ha⁻¹ de N geram um aumento substancial da produção de biomassa total. Foi observada interação entre a inoculação e o híbrido AS 1572, que produziu maior quantidade de MS por área, com menor participação de colmo, quando comparado ao mesmo híbrido sem inoculação. Silagens de híbridos inoculados apresentaram maior teor de MS e espigas, diminuição do teor de hemicelulose e cinzas e aumento da capacidade tamponante da forragem. A adubação nitrogenada incrementou a produtividade e o teor de proteína bruta das silagens, além de interagir com os diferentes híbridos na composição da fibra da silagem. A inoculação com *Azospirillum brasilense* incrementa o acúmulo de biomassa em plantas de milho para silagem por promover um crescimento diferenciado das plantas. A qualidade da silagem e a produtividade de forragem por área é influenciada sensivelmente pela escolha das cultivares e pelos níveis de adubação nitrogenada.

Palavras chave: Bactérias diazotróficas. Forragem conservada. Ureia. *Zea mays* L.

SILAGES OF CORN HYBRIDS INOCULATED WITH *Azospirillum brasilense* SUBMITTED TO DIFFERENT NITROGEN LEVELS

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of *Azospirillum brasilense* inoculation and different nitrogen levels in two harvests on the yield and quality of corn silage. The experiment was conducted in 2013/2014 and 2014/2015 seasons, in Santa Maria - RS. The

AS1572 and AG9030 hybrids were inoculated with *Azospirillum brasilense* strains Ab- V5 and Ab-V6 and fertilized with 0, 60, 120, 240 and 480 kg ha⁻¹ N. Were evaluated the growth, production and quality silage. Inoculation increased corn biomass accumulation for whole plant silage and associated with 120 kg N ha⁻¹ doses generate a substantial increment in total biomass production. An interaction between inoculation and the hybrid AS 1572, which produced more DM with lower stem participation, compared to the same hybrid without inoculation. Inoculated silage hybrids had higher DM content and ears, lower hemicelulose and ash contents and increased the forage buffering capacity. Nitrogen fertilization increased productivity and silage crude protein content, as well as an interaction with different hybrids on the silage fiber composition. Inoculation with *Azospirillum brasilense* increase biomass accumulation and promote a different plant growth. The silage quality and forage yield is significantly influenced by the choice of hybrids and nitrogen fertilization levels.

Keywords: Conserved forage. Diazotrophs. Urea. *Zea mays* L.

INTRODUÇÃO

O cultivo de milho para silagem de planta inteira é a fonte de volumoso preferida em sistemas intensivos de produção de ruminantes, pelo fato desta cultura proporcionar boa composição bromatológica para confecção de silagens, além de parâmetros químicos capazes de assegurarem boa fermentação microbiana aliada há um bom potencial produtivo (NUSSIO; CAMPOS e DIAS, 2001). Com a finalidade de incrementar a produção e a qualidade das silagens de milho, diversos aspectos devem ser observados. Dentre estes, podemos destacar o híbrido utilizado, o qual tem influência marcante na quantidade de matéria seca produzida e na composição botânica e estrutural das plantas no momento da colheita (DOMINGUES et al., 2012).

Dentre os nutrientes minerais essenciais ao desenvolvimento das plantas de milho para silagem está o nitrogênio (N), cuja deficiência provoca inibição no crescimento e clorose das plantas de milho, afetando significativamente a produtividade. Além disso, a falta de N ao longo do ciclo diminui a relação entre nitrogênio e carboidratos, que tende a se acumular nos caules das plantas em forma de parede celular, diminuindo a qualidade nutricional das silagens (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A inoculação com *Azospirillum brasilense* aumenta a produção de várias culturas que podem ser ensiladas, dentre elas o milho. O incremento da produção é resultado direto do

aumento do vigor das plantas, dentre outros fatores, devido à melhoria na absorção de nutrientes e produção de fitormônios (STEENHOUDT; VANDERLEYDEN, 2000). A inoculação pode atenuar em aproximadamente 20% os níveis de N requeridos pelas plantas de milho, sem afetar sua produtividade (DE OLIVEIRA ARAÚJO et al., 2015).

A inoculação com *A. brasilense* tem a capacidade de promover um crescimento radicular mais expressivo, resultando em maior área superficial e profundidade, melhorando a absorção e o aproveitamento dos nutrientes, incluindo o N (DAVISON, 1988). Assim pode-se diminuir significativamente a quantidade de compostos nitrogenados utilizados na agricultura, principalmente em cereais como milho, contribuindo para o desenvolvimento de sistemas de produção sustentáveis (MARIN et al., 1999).

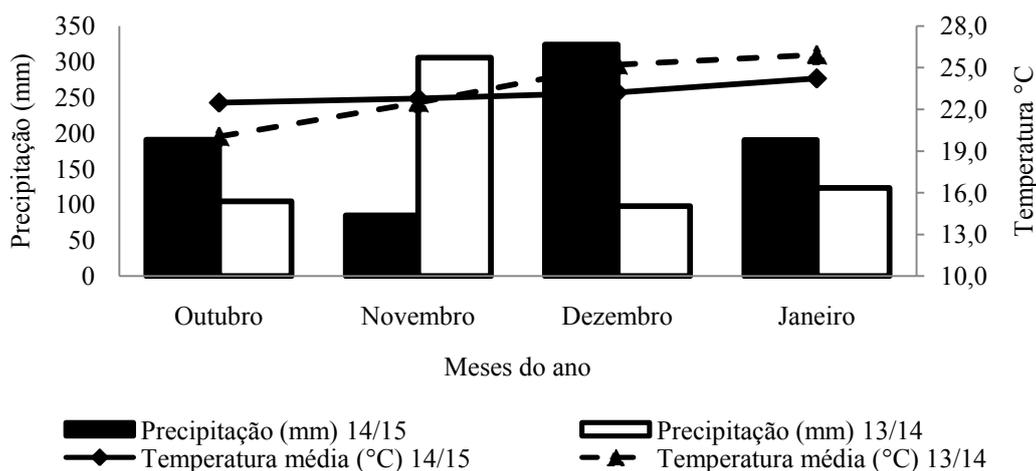
O objetivo deste estudo foi de avaliar a utilização de dois híbridos de milho inoculados com *A. brasilense* e fertilizados com doses de N em cobertura e seus efeitos sobre parâmetros produtivos e nutricionais nas silagens.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos anos agrícolas de 2013/2014 e 2014/2015, na área experimental do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). A área localiza-se na região fisiográfica conhecida como depressão central do estado do Rio Grande do Sul, com latitude -29,71'80" Sul e longitude 53.73'31" Oeste, com altura média de 95 m (IBGE, 2006).

O solo é classificado como Argissolo Vermelho Distrófico Arênico (horizontes A e Bt definidos), com textura média, bem drenado e com relevo levemente ondulado, pertencente a Unidade de Mapeamento São Pedro (EMBRAPA, 2013).

O clima característico, segundo classificação de Köppen-Geiger e descrito por Peel; Finlayson e McMahon (2007) é o Cfa, subtropical, sem estação seca e verões quentes. A temperatura média anual é de 18,8°C, com máximas no verão podendo chegar aos 40,2°C e mínimas no inverno indo até -2,9°C. A precipitação média anual é de 1589,3 mm (CEMETRS, 2015). Os dados climáticos durante o período experimental foram captados da estação meteorológica de observação de superfície automática do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), situada dentro da Universidade Federal de Santa Maria (Figura 1).



Figuras 1 - Médias climatológicas mensais da área experimental nos dois anos de cultivo do milho para silagem
 Fonte: Estação automática do INMET na Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS

Nos meses de maio dos referidos anos agrícolas a área foi semeada com aveia preta (*Avena strigosa*) com a finalidade de cobertura de solo no sistema de plantio direto. No mês de julho, de ambos os anos, foram realizadas a amostragem de solo, na camada de 0 – 20 cm de profundidade, as quais foram enviadas para o laboratório de Solos da UFSM para análise dos atributos químicos (Tabela 1). A partir da recomendação da análise de solo na safra foi realizada a correção da acidez do solo com emprego de 3 t ha⁻¹ de calcário dolomítico com PRNT de 75% (CQFS-RS/SC, 2004). A área foi dessecada 30 dias antes da previsão da semeadura com a aplicação de 3,0 Litros ha⁻¹ (1440 g ia/ha⁻¹) de glifosato.

Tabela 1–Análise química do solo da área experimental nos dois anos de cultivo, Santa Maria, RS

Safra/Ano	Arg.	pH	CTC	Al	Ca	Mg	P	K	M.O	Bases
	%		-----cmol _c /dm ³ -----				--mg/dm ³ --		-----%-----	
2013/2014	23,0	5,0	7,5	0,7	4,5	2,1	17,5	84	2,2	47,8
2014/2015	24,0	5,2	9,9	0,6	6,2	2,8	12,6	108	2,4	67,5

Arg. = argila; pH = pH em água; CTC = capacidade de troca de cátions; Al = alumínio; Ca = cálcio; Mg = magnésio; P = fósforo; K = potássio; M.O = matéria orgânica; Bases = saturação por bases

-Registro no Departamento de solos – UFSM sob número 17185

Foram semeados dois híbridos de milho, o AS 1572TM PRO da Agroeste Sementes[®] com finalidade principal a produção de silagem e o AG 9030TM PRO da Agrocere Sementes[®] com propósito principal a produção de grãos. Como características principais destes híbridos, o AS 1572 possui ciclo precoce, com porte médio, com grãos amarelos e de textura dentada,

enquanto o AG 9030 é de ciclo super precoce, com porte de planta baixo e com grãos alaranjados e de textura dura.

Na ocasião da semeadura, as sementes de milho foram inoculadas com a bactéria *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 isoladas e selecionadas por Hungria et al. (2010) na concentração de $2,0 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ com a utilização de 200 mL ha⁻¹ de inoculante (Aztototal – Total Biotecnologia), diluído em água. Após a aplicação do inoculante sobre as sementes à sombra, estas foram homogeneizadas para que o inoculante entrasse em contato com todos os grãos, que foram semeados imediatamente após a secagem.

Para a semeadura utilizou-se uma semeadora de plantio direto de cinco linhas com espaçamento de 0,50m e regulada para obter-se 50% a mais do estande de plantas desejado, ou seja, 90.000 sementes ha⁻¹. Os tratamentos foram submetidos ao delineamento de blocos ao acaso, sendo que as linhas de cada híbrido com e sem inoculação foram dispostas, ao acaso, dentro de cada bloco. Primeiramente, foram semeadas as linhas das sementes sem tratamento e posteriormente as que receberam a inoculação, para não haver contaminação cruzada com o *A. brasilense*. A semeadura na safra 2013/2014 ocorreu no dia 16 de outubro de 2013 e a da safra 2014/2015 no dia 28 de outubro de 2014.

Em ambas as safras foi utilizada uma mistura de Cloreto de Potássio e Superfosfato triplo, com a finalidade de obter a formulação 0 – 30 – 20 de NPK. Em ambos os anos de cultivo, a adubação utilizada seguiu a recomendação para alta produtividade na cultura do milho, sem que o P e K fossem limitantes de produção, conforme recomendação do manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CQFS-RS/SC, 2004).

Na fase de V1 (1ª folha desenvolvida) foi aplicado herbicida seletivo do grupo químico das Triazinas, de ingrediente ativo ATRAZINE + SIMAZINE em suspensão concentrada através de equipamento costal. Essa aplicação teve por objetivo o controle inicial de algumas espécies de mono e dicotiledôneas, como por exemplo, capim milhã (*Digitaria horizontalis*), Capim Pé-de-Galinha (*Eleusine indica*), Guanxuma (*Sida spp*), Picão Preto (*Bidens pilosa*), entre outros. Passados aproximadamente 15 dias após a germinação completa das sementes foi realizado o desbaste das plantas excedentes, dentro das parcelas experimentais, com o objetivo de obter população aproximada de 60.000 plantas ha⁻¹. Ainda, em ambos os anos (fase V6 na safra 2013/2014 e na fase V4-V5 na safra 2014/2015), foi aplicado nas entrelinhas, herbicida seletivo sistêmico de ingrediente ativo TEMBOTRIONA, para o controle do capim milhã (*Digitaria horizontalis*) e Capim-papuã (*Brachiaria plantaginea*).

Após a semeadura, no estágio VE (emergência) foi feita uma aplicação de 30 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia (45% N), aplicada na linha de cultivo, exceto para os tratamentos com 0 kg ha⁻¹ de N. A adubação de cobertura foi realizada com fertilizante nitrogenado, ureia agrícola (45% N), em dois estágios de desenvolvimento da cultura e dividiu-se a dosagem a ser aplicada em duas vezes, conforme os tratamentos: 0, 60, 120, 240 e 480 kg ha⁻¹ de N. A primeira aplicação ocorreu no estágio vegetativo com quatro folhas desenvolvidas (V4) e a segunda entre os estágios de seis a oito folhas desenvolvidas (V6-V8).

Aproximadamente 30 dias após a germinação, a partir de um acúmulo de MS superior a 1000 kg ha⁻¹, duas plantas de cada unidade experimental foram cortadas. Estas foram grosseiramente picadas e levadas a estufa de circulação de ar forçada a uma temperatura média de 55° C por um período mínimo de 72 horas, ou até que as amostras tivessem peso constante. Estes cortes foram realizados em períodos fixos de 15 a 17 dias, dependendo das condições meteorológicas. A partir do peso seco das amostras foi calculado o acúmulo de biomassa (kg de MS ha⁻¹) de cada tratamento.

A colheita das plantas para o processo da ensilagem foi realizada quando a maior parte dos grãos se encontrava no estágio de 50% da linha do leite para o milho conforme recomendação de Bal e Shaver (1997), sendo as plantas cortadas aproximadamente 20 cm de altura do solo. Todas as plantas da linha central da parcela foram colhidas, contadas e pesadas, para realizar a estimativa de produtividade de forragem por hectare. Depois, foram retiradas duas plantas, realizando-se a separação manual dos componentes, colmo + inflorescência, folhas, espigas e material senescente. Estas amostras contendo os componentes estruturais foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C até peso constante, para obtenção da estimativa da matéria parcialmente seca e determinação da produção da cultura e dos componentes morfológicos em kg ha⁻¹ de MS.

O restante das plantas das fileiras centrais foram trituradas em picador de forragem estacionário, com partículas de tamanho médio de 0,5 a 2 cm, ensiladas em mini silos laboratoriais feitos em sacos plásticos. Os mini silos foram armazenados em local seco e protegidos da luminosidade solar, ventos e chuvas e abertos aproximadamente 100 dias após a ensilagem.

Na abertura, uma amostra de 200 g de silagem foi retirada de cada repetição, seca em estufa a 55 °C por 72 horas, pesadas para determinação da matéria pré seca (MPS), posteriormente moídas em moinho do tipo Willey com peneira de 1mm. Foram avaliadas a matéria seca (MS) em estufa a 105°C durante um período mínimo de 8 horas, proteína bruta (PB) pelo método micro Kjeldahl, matéria mineral (MM) através de incineração em mufla a

550°C durante 4 horas, fibra em detergente neutro (FDN) obtida com uso de α -amilase termo estável segundo Van Soest et al. (1991) fibra em detergente ácido (FDA) e lignina em detergente ácido (LDA) conforme Goering e Van Soest (1970), hemicelulose (HEM) pela diferença entre FDN e FDA e celulose (CEL) pela diferença entre FDA e LDA de acordo com Van Soest (1994). Todas as análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia e Nutrição de Ruminantes da Universidade Federal de Santa Maria.

Para a determinação da capacidade tamponante (CT), no momento da ensilagem retirou-se uma amostra de 15 g de forragem fresca de cada unidade experimental, a qual se efetuou a maceração e diluição em 250 mL de água destilada. Com o auxílio de bureta, titulou-se com HCL (0,1N) até pH 3,0. A CT foi calculada em meq (equivalente miligrama) de HCL/100 gramas de MS (PLAYNE; MCDONALD, 1966).

Na ocasião da abertura dos silos procedeu-se a análise de pH. Foram retiradas 9 gramas de silagem, colocados em copos de Becker e adicionados 60 mL de água destilada, tomando-se a medida meia hora após, com potenciômetro digital (SILVA; QUEIROZ, 2002). Através de uma prensa hidráulica, foram prensados 300 gramas de silagem, coletou-se uma amostra de 100 mL do líquido resultante da prensa, que foi centrifugado e analisado o nitrogênio amoniacal ($N-NH_3 NT^{-1}$) pelo método de colorimetria segundo Weatherburn (1967).

As perdas durante o processo de fermentação foram avaliadas a partir da determinação da recuperação da MS (RMS). Inicialmente a RMS é expressa como a MS da silagem recuperada a partir da forragem, considerando esta como 100%. O método empregado e adaptado utiliza o peso dos silos pré e pós fermentação multiplicando o valor de MS de cada fase, através da seguinte equação proposta por (JOBIM et al., 2007):

$$RMS = [(MFs \times MSs) / (MFf \times MSf)] * 100$$

Onde:

RMS: recuperação da MS; MFs: massa de forragem da silagem, composta pelo peso do saco + silagem; MFf: massa de forragem pré silo, composta pelo peso do saco + forragem; MSs: teor de MS da silagem; MSf: teor de MS da forragem.

O delineamento experimental utilizado foi o de Blocos ao Acaso (BAC), com 20 tratamentos e três repetições cada. Os tratamentos ficaram distribuídos em um arranjo fatorial (2x2x5) composto por dois híbridos, inoculados ou não com *Azospirillum brasilense* e diferentes níveis de N (0, 60, 120, 240, 480 Kg ha⁻¹). O seguinte modelo estatístico foi utilizado:

$$Y_{ijkl} = \mu + H_i + I_j + N_k + HI_{ij} + HN_{ik} + IN_{jk} + HIN_{ijk} + \beta_l + \epsilon_{ijkl},$$

em que: Y_{ijkl} : representa o valor observado que recebeu o tratamento de ordem “ijkl”; μ : representa a média geral obtida; H_i : representa o efeito dos Híbridos de ordem “i”; I_j : representa o efeito da inoculação de ordem “j”; N_k : representa o efeito do nitrogênio de ordem “k”; HI_{ij} : representa o efeito da interação entre híbrido e inoculação de ordem “ij”; HN_{ik} : representa o efeito da interação entre híbrido e doses de nitrogênio de ordem “ik”; IN_{jk} : representa o efeito da interação entre inoculação e doses de nitrogênio de ordem “jk”; HIN_{ijk} : representa o efeito da interação entre híbridos, doses de nitrogênio e inoculação de ordem “ijk”; β_l : representa o efeito dos blocos de ordem “l”; ϵ_{ijkl} : componente do erro aleatório associado ao i- híbrido, j- inoculação, k- dose de N e l- efeito de bloco.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e análise de variância (ANOVA) e posteriormente a análise de comparação múltipla de médias, testando os fatores isoladamente e suas interações pelo procedimento Mixed (*proc mixed*). Quando significativas, as interações foram agrupadas de acordo com os tratamentos e então submetidas ao teste de comparação de médias pelo procedimento GLM (*proc GLM*). O fator safra agrícola foi incluído como variável aleatória no modelo, visto a falta de controle experimental e a impossibilidade de repetição das condições no tempo.

Para as características avaliadas em função dos híbridos de milho e inoculação com *Azospirillum brasilense*, usou-se a comparação de médias múltiplas pelo teste de Tukey, enquanto que as variáveis avaliadas em função das diferentes doses de N foram estimadas por equações de regressão com modelo geral testando a curva linear e quadrática, sendo o critério de seleção do modelo o coeficiente de determinação (r^2) e o nível de significância (P). A significância foi considerada como $P \leq 0,05$ (95% de probabilidade), sendo todos os testes realizados com a utilização do programa estatístico SAS, versão 9.2 (SAS, 2008), enquanto os gráficos foram produzidos com o suporte do programa Microsoft Excel, (EXCEL, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apenas na safra 2013/14 foi observada uma pequena estiagem no mês de dezembro, sendo observada perda de turgência das folhas por dois a três dias, quando temperatura alta. Na safra 2013/2014 foram 631 mm acumulados de chuva, do dia da semeadura até a colheita das espigas, enquanto na safra 2014/2015 ocorreu precipitação de 790 mm, sendo que em ambas as safras foram superadas a necessidade da cultura para grãos, 600 mm, de acordo com

(ALDRICH; SCOTT; LENG, 1982). A aplicação dos herbicidas garantiu total desenvolvimento da cultura sem que houvesse competição por nutrientes com plantas daninhas. O estande médio de plantas foi de 60766 plantas ha⁻¹, não havendo diferença entre os tratamentos.

A inoculação com *Azospirillum brasilense* promoveu desenvolvimento diferenciado ao longo dos estádios fenológicos da cultura (Tabela 2). Nos três primeiros cortes, entre os estádios V5 e VT, não foram observadas diferença (P > 0,05) entre o tratamento com inoculação e o controle. A partir do 4º corte, já no estágio reprodutivo das plantas (R2), a inoculação promoveu aumento (P < 0,05) na quantidade total de biomassa produzida até o ponto de corte para ensilagem.

Tabela 2- Acúmulo de biomassa total (Kg de MS ha⁻¹) em diferentes estádios fenológicos de híbridos de milho submetidos à inoculação com *Azospirillum brasilense*

Tratamento		Estádio de desenvolvimento				
		V5	V9	VT	R2	R5
Inoculação	Inoculado	1271,55	4772,70	8114,60	13126,12	14933,90
	Controle	1210,45	4731,10	7873,54	12071,14	14179,34
	Pr>F	0,0923	0,7976	0,3224	0,0489	0,0215
Estatística	EP*	29,50	94,75	171,97	266,56	208,09

*EP= Erro padrão da média; Pr>F = Significativo pelo teste de Tukey, quando menor ou igual a 0,05.

O incremento da produção de milho quando inoculado pode ser resultado da melhora na absorção de nutrientes e tolerância ao estresse hídrico, devido ao aumento do tamanho e quantidade das raízes, além de maior altura total das plantas (BARASSI et al.,2008; HUNGRIA, 2011). Entretanto, como não houve estresse hídrico e diferença na estatura das plantas no presente estudo e considerando a maior extração de NPK na cultura, entre 75 e 100 dias após a emergência (BULL; CANTARELLA, 1993), credita-se este maior desenvolvimento das plantas, nestes estádios, a melhora do processo de absorção de nutrientes, possivelmente associado ao desenvolvimento radicular e/ou produção de fitormônios estimulados pela inoculação.

Além de influenciar na produção de MS, os híbridos quando inoculados com *A. brasilense* tiveram a estrutura morfológica das plantas no momento do corte para ensilagem alterada (Tabela 3). Este fato é demonstrado pelo maior teor de MS (P < 0,05), maior participação de espigas e redução da participação de colmo (P < 0,05) no momento da

ensilagem para híbridos inoculados com *A. brasilense*. Não foram observados efeitos da inoculação sobre a participação de folhas e peso médio por planta.

Tabela 3- Efeitos da inoculação com *Azospirillum brasilense* sobre o teor de MS, peso de planta e participação de folhas e espigas na forragem de híbridos de milho para silagem

TRATAMENTO		Variáveis			
		MS(%)	Peso/planta ¹	Folhas ²	Espiga ²
Cultivar	AS1572	33,49	738,59	16,34	52,18
	AG9030	36,66	645,18	15,72	62,06
	Pr> F	<,0001	<,0001	0,1589	<,0001
Inoculação	Sim	35,78	694,03	15,89	58,19
	Não	34,37	689,73	16,17	56,05
	Pr> F	0,0338	0,7349	0,5278	0,0277
Estatística	EP*	0,65	12,65	0,43	0,96

1 = peso médio por planta em gramas; 2 = Participação (%) de cada componente com base na matéria seca total da forragem a ser ensilada; *EP= Erro padrão da média; Pr>F = Significativo pelo teste de Tukey, quando menor ou igual a 0,05.

A diminuição da participação de colmo em plantas inoculadas ocorreu devido à interação entre a inoculação e o híbrido AS 1752 (Tabela 4). A inoculação diminuiu ($P < 0,05$) a quantidade de colmo produzida pelo AS 1572, enquanto que não se observou efeitos ($P > 0,05$) sobre o AG 9030, que obteve menores valores de colmo. O menor percentual de colmo no AG 9030 está associado ao ciclo de crescimento deste híbrido (super precoce) e a menor altura das plantas quando comparado ao híbrido AS 1572.

Tabela 4- Interação entre a inoculação com *Azospirillum brasilense* e híbridos de milho na participação percentual de colmo (%) sobre o percentual total de componentes botânicos na MS das plantas no momento da ensilagem

Híbridos				Pr> F	EP*
AS 1572		AG 9030			
<i>A. brasilense</i>	Controle	<i>A. brasilense</i>	Controle		
28,14 ^b	31,80 ^a	22,18 ^c	21,60 ^c	< 0,0001	0,76

*EP = Erro padrão da média; Pr>F = Significativo pelo teste de Tukey, quando menor ou igual a 0,05

O aumento no teor de MS pode estar relacionado a maior participação de espigas com a inoculação, já que na fase final de ciclo da cultura do milho a espiga é o componente que apresenta o maior peso das plantas (LAVEZZO et al., 1997). Esta mudança nos componentes

estruturais das plantas de milho para silagem quando há a inoculação das sementes com *A. brasilense* confirma a hipótese que a inoculação promove um crescimento diferenciado das plantas.

O desenvolvimento vegetal e a sua morfogênese dependem de sinais químicos, hormônios, que são transmitidos de uma parte da planta para outra. O principal hormônio relacionado à divisão e crescimento rápido dos tecidos da parte aérea dos vegetais é o ácido indol-3-acético (AIA), que pode ser encontrado tanto nos meristemas ou nas raízes (STOUT; BERNASCONI; MURPHY, 2013). A inoculação com *Azospirillum brasilense* possui papel fundamental em produzir o AIA, alterando a morfologia das raízes (DOBBELAERE et al. 1999) e acelerando o crescimento vegetativo das plantas de milho.

O híbrido AS 1572 produziu maior quantidade de biomassa total média frente ao AG 9030 ($P=0,03$), 14872 e 14180 kg ha⁻¹ de MS, respectivamente. A diferença de produtividade entre os híbridos testados se deve aos seus respectivos ciclos produtivos, altura média de planta (2,42m para o AS1572 e 2,10m para o AG 9030), teor de MS e a maior participação de espigas na massa ensilada, estes dois últimos fatores influenciados pela inoculação com *A. brasilense*. Além disso, o híbrido AS 1572 respondeu de forma mais significativa ao incremento da adubação nitrogenada, com produção máxima de 16992 kg ha⁻¹ de MS com dose de 284 Kg ha⁻¹ de N, enquanto o híbrido AG 9030 produziu no máximo 15576 kg ha⁻¹ de MS com a dose de 292 Kg ha⁻¹ de N (Figura 2).

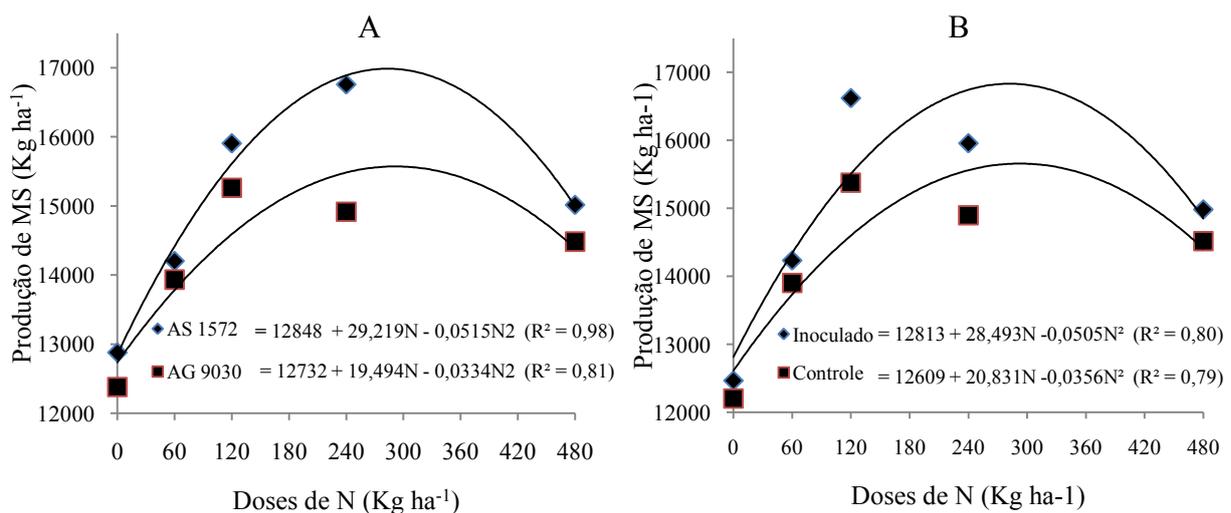


Figura 2 - Produção de forragem dos diferentes híbridos de milho (A), inoculados com *Azospirillum brasilense* (B) e submetidos a doses crescentes de adubação nitrogenada em cobertura

O nitrogênio é nutriente determinante no crescimento das plantas de milho, pois influencia processos fisiológicos essenciais para manutenção do ciclo vegetal, como drenos reprodutivos e formação de clorofila, essencial na fotossíntese (BASI et al., 2012). A partir de uma análise com foco na minimização da dependência de fertilizante químicos, pode-se inferir que doses a partir de 120 kg ha⁻¹ de N parece ser suficiente para garantir boa produtividade de MS de silagem.

A escolha das cultivares tem influência marcante na qualidade fermentativa da silagem de milho (Tabela5). O híbrido AS 1752 apresentou menor (P<0,05) teor de MS e pH, enquanto que para capacidade tamponante, teor de nitrogênio amoniacal os valores foram superiores (P<0,05), quando comparado ao AG 9030. A recuperação de MS não foi afetada pelos tratamentos (P>0,05).

Tabela 1- Qualidade fermentativa de silagens de milho de diferentes híbridos inoculados com *Azospirillum brasilense*

Fator	Tratamento	Variáveis				
		MSpré ¹	CT ²	NH ₃ /NT ³	pH	RMS ⁴
Cultivar	AS1572	33,49	13,08	8,84	3,73	88,79
	AG9030	36,66	11,97	7,83	3,77	90,05
	Pr> F	<,0001	0,009	0,0005	0,0006	0,162
Inoculação	Sim	35,78	12,96	8,50	3,76	88,90
	Não	34,37	12,09	8,18	3,74	89,94
	Pr> F	0,0338	0,042	0,256	0,1273	0,246
Estatística	EP**	0,65	0,42	0,28	0,01	0,89

1= Matéria Seca da forragem no momento da ensilagem; 2 = Capacidade Tamponante em meq de HCL/100 g de MS; 3 = Porcentagem de Nitrogênio amoniacal sobre o Nitrogênio Total; 4 = Recuperação da Matéria Seca (%); *EP= Erro padrão da média; Pr>F = Significativo pelo teste de Tukey, quando menor ou igual a 0,05.

Os valores de pH mesmo que mais elevados para o AG 9030, estão dentro de níveis adequados e perto do limite inferior para silagens de milho. Estes valores refletem uma boa acidificação das silagens, que normalmente está associada à fermentação com bactérias ácidas lácticas homo fermentativas (KUNG JR, 2010). De acordo com o mesmo autor e demonstrado pela análise de correlação feita neste trabalho, existe correlação positiva ($r^2=0.07026$ e $p=0,0005$) entre o teor de MS da silagem e pH, o que explica o menor valor deste para o híbrido AS 1572.

Os valores de N amoniacal encontrados estão perto dos níveis normais para silagem de milho (5 a 8%) e não comprometem a qualidade da silagem. Valores acima de 12% em

silagens de milho são raras de acontecer e estão ligados à ensilagem de forragem com excesso de umidade. Valores elevados podem indicar atividade proteolítica excessiva causados por uma queda lenta de pH. A silagem do AS 1572 possui menor teor de MS o que pode ter favorecido o aumento da porcentagem de NH₃. O nitrogênio amoniacal em silagens geralmente está associado à fermentação ocasionada por bactérias do gênero *Clostridium*, que inicialmente utilizam aminoácidos como substrato para a fermentação o que resulta em produção de compostos como amônia e aminas (MUCK, 1988). Deve-se atentar para valores altos, geralmente acima de 10 – 12%, que ocasionam perdas de MS e energia, afetando a qualidade e prejudicando o consumo voluntário em ruminantes (KUNG JR; SHAVER, 2001).

A capacidade tamponante (CT) foi maior para o híbrido AS 1572 e quando as silagens eram provenientes de híbridos submetidos à inoculação. Determinada como a capacidade que as forragens tem de resistir a queda do pH, a CT está ligada a composição da planta, como teor de PB, íons orgânicos entre outros (JOBIM et al., 2007). Muck (1988) relata que a CT de forrageiras está relacionada, dentre outros fatores, com níveis de adubação. A maior CT em híbridos inoculados pode ser resultado da maior capacidade de absorção e aproveitamento de minerais e nutrientes presentes no solo ou originários da fertilização.

Observaram-se comportamentos distintos quanto ao acúmulo de hemicelulose (% na MS) nas silagens quando os híbridos foram submetidos à inoculação e simultaneamente fertilizados com doses de N em cobertura (Figura 3). Quando inoculado, o teor de hemicelulose da silagem responde de forma linear, aumentando sua concentração com o aumento da adubação nitrogenada. Sem a inoculação, existe um comportamento quadrático com diminuição do teor de hemicelulose com dosagens de até 250 Kg de N ha⁻¹, voltando a aumentar com doses maiores.

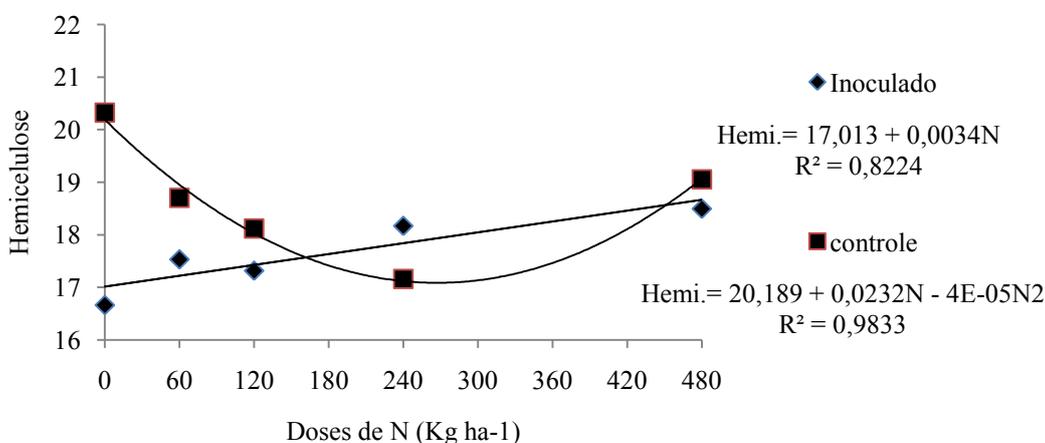


Figura 3- Interação entre inoculação e doses de nitrogênio no teor de hemicelulose (% da MS) da silagem de milho

Houve interação entre cultivares e diferentes doses de N, com diferentes respostas quanto ao teor de FDA (% na MS) (Figura 4). A cultivar AS 1572 respondeu de forma quadrática, com aumento do FDA através da elevação de níveis de N até 240 kg de N ha⁻¹, diminuindo em dosagens maiores, enquanto que o AG 9030 respondeu de forma inversa. Há de se considerar que híbridos de milho para silagem (AS 1572) buscam um equilíbrio na relação produção de massa verde/produção de espiga. Ao se aumentar as doses de N, há um estímulo maior no crescimento das plantas para o AS 1572, produzindo maior percentual de colmo, enquanto para o AG 9030, tem estatura menor com foco na produção de espiga. Estes dois componentes (colmo e espigas) influenciam diretamente o teor de fibras nas plantas.

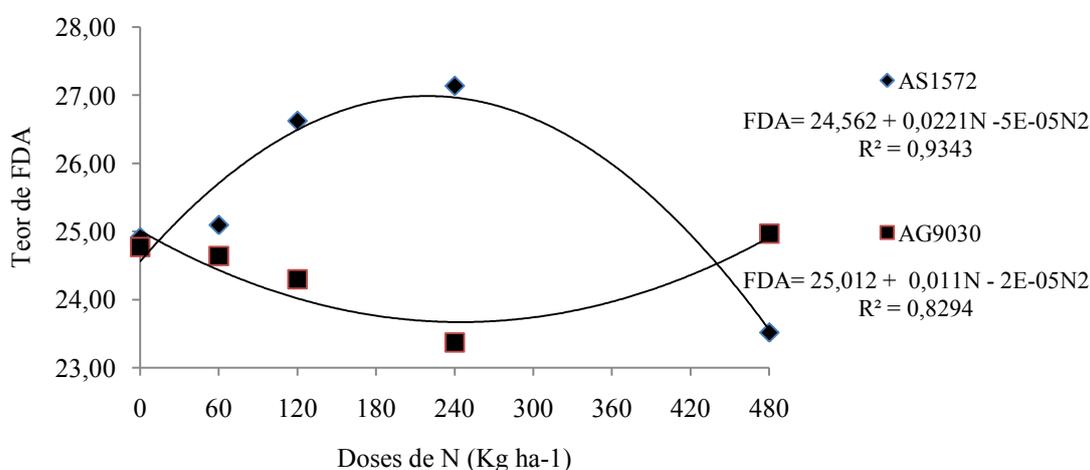


Figura 4- Interação entre doses de N e cultivares de milho sobre o teor de FDA (% na MS) de silagens de milho

Além de o nitrogênio ser um nutriente essencial para o aumento de produção de biomassa, a adubação nitrogenada também pode influenciar a qualidade nutricional da mesma (BASI et al., 2011). O acréscimo das doses de N em cobertura aumenta a produtividade e qualidade das silagens de milho, entretanto reduz a eficiência e a recuperação deste nutriente (DE MENEZES et al., 2013). Existem claras indicações que há diferenças na utilização do N entre os diferentes híbridos na resposta à adubação nitrogenada, na eficiência de absorção e acumulação na forma de biomassa (GALVÃO; MIRANDA, 2004). Interações genótipo e adubação quando ocorrem, ou até mesmo estes isoladamente, influenciam o teor de FDA em silagens e devem ser atentamente observados como critério de qualidade em silagens de milho, já que a FDA tem sido correlacionada negativamente com a digestibilidade dos alimentos (WEISS, 1998).

Independentemente da inoculação ou híbrido, o teor de PB (% na MS) respondeu linearmente ao aumento das doses de N (Figura 5). O aumento do teor de PB foi relacionado

por Lavezzo et al. (1997) com o aumento da participação de folhas na forragem ensilada, o que não ocorreu no presente estudo. Menezes et al. (2013), diferentemente deste estudo, encontraram resposta quadrática no valor de PB com aumento da fertilização com N, com resposta máxima, cerca de 7,5% de PB, com doses de 180 kg de N ha⁻¹. Estes também não encontraram relação do aumento de PB com o número de folhas e atribuíram ao aumento da concentração protéica nas frações das plantas.

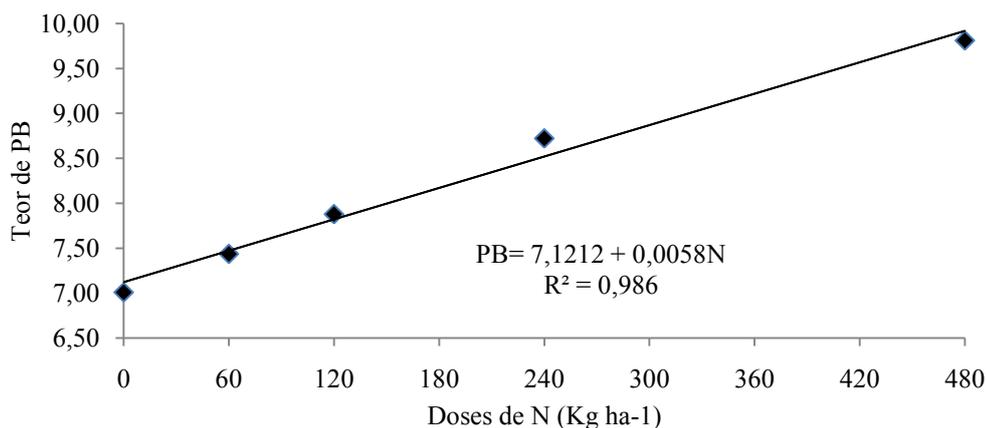


Figura 5- Proteína bruta (% na MS) em silagens de planta inteira de milho fertilizadas com doses crescentes de N

O aumento da adubação nitrogenada ocasiona um rápido crescimento das plantas, pois o nitrogênio é elemento essencial na formação de compostos de carbono. Assim, o aumento da disponibilidade de N no solo para as plantas, ocasiona uma maior absorção deste elemento, formando maiores quantidades de compostos como aminoácidos, ácidos nucleicos, entre outros, aumentando o teor de proteína bruta nas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

O teor de PB em silagens de milho é muito variável, depende de características individuais de cada genótipo e também está diretamente ligada a adubação nitrogenada em cobertura, como apontado neste trabalho. Dentre as frações da planta que podem ocasionar leve aumento dos teores de PB em silagem de milho, estão os grãos (YAMADA; ABDALLA, 2000). Na média, os híbridos apresentaram teor de PB em torno de 8%, valor suficiente para atender a demanda mínima de proteína bruta (7%), exigida pelo microrganismo do rúmen para garantir adequada fermentação microbiana (CHURCH, 1998).

Pode-se verificar que a inoculação possui pouco efeito sobre a qualidade nutricional das silagens, apenas diminuindo levemente o teor de hemicelulose e matéria mineral presentes na MS (Tabela 6), os quais não tendem a afetar a qualidade. Houve diminuição da participação total de colmo na massa ensilada quando no milho inoculado. Como não foram

observadas diferenças nos valores de FDA, celulose e lignina quando houve a inoculação, atribui-se essa diminuição à menor participação da hemicelulose na formação do colmo.

Tabela 6- Efeitos dos híbridos de milho e inoculação com *Azospirillum brasilense* sobre a qualidade nutricional da silagem

Fator	Tratamento	Variáveis							
		MS*	PB*	FDN*	FDA*	HEMI*	CEL*	LDA*	MM*
Cultivar	AS1572	30,76	8,13	42,03	25,40	18,35	22,30	3,16	3,98
	AG9030	33,89	7,96	42,30	24,23	18,06	21,41	2,93	3,96
	Pr> F	<,0001	0,205	0,649	0,022	0,508	0,061	0,110	0,735
Inoculação	Sim	32,38	8,08	42,36	24,88	17,68	21,93	3,02	3,90
	Não	32,27	8,00	41,97	24,76	18,72	21,78	3,07	4,03
	Pr> F	0,796	0,520	0,515	0,808	0,018	0,747	0,699	0,018
Estatística	EP**	0,432	0,133	0,601	0,506	0,432	0,471	0,140	0,057

*% na MS; **EP= Erro padrão da média; Pr>F = Significativo pelo teste de Tukey, quando menor ou igual a 0,05.

A maior quantidade de colmo na massa ensilada do AS 1572 e principalmente a diminuição da porcentagem de espigas, ambos resultantes da diferença de ciclo entre as cultivares, elevou os valores de FDA na parede celular dessas plantas, quando comparado ao híbrido AG 9030. O tipo de híbrido utilizado pode modificar a qualidade nutricional em silagens, principalmente os teores e digestibilidade dos componentes da parede celular (HUNT et al., 1993) (HOLT et al., 2010). Para Bal et al. (2000) a escolha do híbrido a ser ensilado pode alterar a digestibilidade da ração, influenciando a produção diária de leite.

CONCLUSÕES

A inoculação com *Azospirillum brasilense* incrementa o acúmulo de biomassa em plantas de milho para silagem por promover um crescimento diferenciado que se inicia na fase reprodutiva da cultura, continuando até o momento do corte para ensilagem. A inoculação altera os componentes morfológicos das plantas, como a participação de espigas e de colmo, na forragem a ser ensilada, mas observaram-se efeitos brandos sobre a qualidade da silagem de milho.

A qualidade da silagem e a produtividade de forragem por área é influenciada sensivelmente pela escolha das cultivares e pelos níveis de adubação nitrogenada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O.; LENG, E.R. **Modern corn production**. 2.ed. Champaign: A & L Publication, 1982. 371 p.

BAL, M. A. et al. Corn silage hybrid effects on intake, digestion, and milk production by dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 83, n. 12, p. 2849-2858, 2000.

BAL, N.; SHAVER, R. Impact of the maturity of corn for use as silage in the diets of dairy cows on intake, digestion and milk production. **Journal of Dairy Science**.v.80, p. 2497-2503, 1997.

BARASSI, C.A. et al. Potencialidad de *Azospirillum* em optimizer 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, p.49-59, 2008.

BASI, S. et al. Influência da adubação nitrogenada sobre a qualidade da silagem de milho. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 4, n. 3, 2012.

BÜLL, L. T.; CANTARELLA, H. **Cultura do milho**: fatores que afetam a produtividade. POTAFOS, Piracicaba, 1993.

CENTRO ESTADUAL DE METEOROLOGIA – CEMETRS. **Precipitação pluviométrica**. Acesso em 28 de out. 2015. Disponível em: http://www.cemet.rs.gov.br/conteudo/3933/?5_-_Precipita%C3%A7%C3%A3o.

CHURCH, D. C. **The ruminant animal**: digestive physiology and nutrition. Prentice Hall: New Jersey, 1988. 564 p.

COELHO, A. M; DE FRANÇA, G.E. **Nutrição e adubação do milho**. Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 2006.

COMISSAO DE QUIMICA E FERTILIDADE DO SOLO DO RS/SC – CQFS-RS/SC.
Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.
Porto Alegre: SBCS- NRS,2004.400p.

COSTA, E. F. N. et al. Herança da senescência retardada em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 207-213, 2008.

DE MENEZES, L. F. G. et al. Produção, valor nutricional e eficiências de recuperação e utilização do nitrogênio de silagens de milho sob diferentes doses de adubação nitrogenada. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 3, p. 1353-1362, 2013.

DE OLIVEIRA ARAÚJO, É. et al. Effect of nitrogen fertilization associated with diazotrophic bacteria inoculation on nitrogen use efficiency and its biological fixation by corn determined using ¹⁵N. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, n. 9, p. 643-650, 2015.

DOBBELAERE, S. et al. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. **Plant and soil**, v. 212, n. 2, p. 153-162, 1999.

DOMINGUES, A. N., et al. Características agronômicas de híbridos de milho para produção de silagem no Estado do Mato Grosso, Brasil. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 35, n. 1, p. 7-12, 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Rio de Janeiro, 2013. 353p.

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D. Meta-analysis: Effect of corn silage harvest practices on intake, digestion, and milk production by dairy cows. **The Professional Animal Scientist**, v. 28, n. 2, p. 141-149, 2012.

GALVÃO, J.C.C., MIRANDA, G.V. **Tecnologias de produção do milho**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2004, 366p.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analysis**. Agricultural handbook no. 379. US Department of Agriculture, Washington, DC, p. 1-20, 1970.

HOLT, M. S. et al. Effects of corn silage hybrids and dietary non forage fiber sources on feed intake, digestibility, ruminal fermentation, and productive performance of lactating Holstein dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 11, p. 5397-5407, 2010.

HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. Lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Embrapa Soja, 2011.

HUNT, C. W. et al. Effects of Hybrid and Ensiling With and Without a Microbial. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 38-43, 1993.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Mapas Temáticos:Relevo**.Disponível em:<ftp://geofp.ibge.gov.br/mapas_tematicos/mapas_murais/relevo_2006.pdf>. Acesso em 16/08/15.

JOBIM, C. C. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, *suplemento especial*, p.101-119, 2007.

KOLVER, E. S. et al. Maize silage for dairy cows. In: **proceedings of the conference-new zealand grassland association**. v. 63, p. 195-202, 2001.

KUNG JR, L. Understanding the biology of silage preservation to maximize quality and protect the environment. In: **Proc. California Alfalfa & Forage Symposium**,Visalia, CA. p. 41-54, 2010.

KUNG JR, L.; SHAVER, R. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. **Focus on forage**, v. 3, n. 13, p. 1-5, 2001.

LAVEZZO, W.; LAVEZZO, O. E. N. M.; NETO, O. C. Estádio de desenvolvimento do milho: efeito sobre a produção, composição da planta e qualidade da silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 4, p. 675-682, 1997.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F.O.M. **Fisiologia da produção de milho**. Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

MARIN, V. A., et al. **Fixação biológica de nitrogênio**: bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical. EMBRAPA. 1999. 34 pag.

MICROSOFT OFFICE EXCEL 2007. **User's Guide**. Redmond, WA. 2006.

MITTELMANN, A. et al. Avaliação de híbridos comerciais de milho para utilização como silagem na Região Sul do Brasil. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 684-690, 2005.

MUCK, R. E. Factors Influencing Silage Quality and Their Implications for Management. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 11, p. 2992-3002, 1988.

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; DIAS, F.N. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. **Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas**, v. 1, p. 127-145, 2001.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences Discussions**, v. 4, n. 2, p. 439-473, 2007.

PLAYNE, M. J.; McDONALD, P. The buffering constituents of herbage and of silage. **Journal Science Food and Agriculture**, London, v. 17, n. 2, p. 264-268, 1966.

SCHMIDT, P. **Perdas fermentativas na ensilagem, parâmetros digestivos e desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar**. 2006. 229 p. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 2006.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos (Métodos químicos e biológicos)**. 3 ed. Viçosa:UFV, Imprensa Universitária, Viçosa, MG, 2002. 165p.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS/STAT® 9.2 **User'sGuide**. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2008.

STOUT, R.G.; BERNASCONI, P.; MURPHY,A. Auxina: o primeiro hormônio do crescimento vegetal descoberto. Pag 543 -580. In: TAIZ, L.;ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. Ed. Artmed, Porto Alegre. 2013. 918 pag.

TAIZ, L.;ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. Ed. Artmed, Porto Alegre. 2013. 918 pag.

VAN SOEST, P.J. et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. O & B Books, Inc., Corvallis, 1994.476 p.

VIEIRA, V. C. et al. Caracterização bromatológica e agrônômica de genótipos de milho para produção de silagem. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v. 65, n. 3, p. 847-856, 2013.

WEATHERBURN, M.W. **Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia**. **Analytical Chemistry**, v.39, p.971-974, 1967.

WEISS, W. P. Estimating the available energy content of feeds for dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 3, p. 830-839, 1998.

YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. Como melhorar a eficiência da adubação nitrogenada do milho? **biológica**, v. 25, n. 93, p. 30, 2000.

4. ARTIGO 2 – PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO INOCULADOS COM *Azospirillum brasilense* E FERTILIZADOS COM DOSES DE NITRÔGENIO

Resumo

O milho é um cereal indispensável em nível mundial para consumo humano, alimentação animal e estratégias devem ser utilizadas para aumentar a produtividade sem impactar negativamente a sustentabilidade dos sistemas. Objetivou-se avaliar a influência da inoculação com *Azospirillum brasilense* e a fertilização com níveis de nitrogênio nas variáveis agronômicas de dois híbridos de milho. Foi conduzido o presente estudo nas safras 2013/2014 e 2014/2015, em Santa Maria – RS, com os híbridos AS1572 (finalidade silageira e grãos) e o AG9030 (finalidade de produção de grãos). Os híbridos foram inoculados com as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense* e fertilizados com cinco níveis de nitrogênio (0, 60, 120, 240 e 480 kg ha⁻¹ de N) na forma de ureia. Foram avaliadas as variáveis produção e peso de grãos, dimensões e quantidade grãos das espigas, diâmetro de colmo, altura da planta, índice de área foliar, prolificidade e suas correlações. Foi observada maior produção de grãos (acréscimo de quase uma tonelada ha⁻¹) para o híbrido as 1572 quando submetido à inoculação, causada pelo aumento no número de grãos por espiga, enquanto nenhum efeito foi observado no AG9030. Independente do genótipo ou inoculação, a adubação nitrogenada incrementa a produtividade da cultura por elevar o peso médio dos grãos e níveis entre 120 e 240 kg ha⁻¹ de N incrementam a produção de grãos em níveis máximos. Excetuando-se as variáveis acima citadas, a inoculação não interfere na estrutura morfológica externa das plantas. Nas demais variáveis agronômicas apenas os híbridos interferem, devido às características genéticas.

Palavras chave: Grãos. Produtividade. Ureia. *Zea mays* L.

PRODUCTION OF CORN HYBRIDS INOCULATED WITH *Azospirillum brasilense* AND FERTILIZED WITH NITROGEN LEVELS

Abstract

Corn is an essential worldwide cereal for human consumption or animal feed and strategies should be used to increase productivity without negatively impact on the production systems. In order to evaluate the influence of *Azospirillum brasilense* inoculation and nitrogen fertilization in agronomic variables in two corn hybrids, this study was conducted in 2013/2014 and 2014/2015 crop seasons, in Santa Maria - RS, with AS1572 hybrids (silage

and grain purpose) and AG9030 (grain production purpose). The hybrids were inoculated with *A. brasilense* (Ab-V5 and Ab -V6 strains) and fertilized with five nitrogen levels (0, 60, 120, 240 and 480 kg ha⁻¹ N) in urea form. Were evaluated production and grain weight, dimensions and quantity of grain in corn cob, stem diameter, plant height, leaf area index, prolificacy and their correlations. Higher grain yield was observed (one ton. ha⁻¹) for the hybrid 1572 when subjected to inoculation caused by the increase in the number of grains per cob, while no effect was observed in AG9030. Nitrogen fertilization increased crop yield by raising the average weight of grain and levels between 120 and 240 kg ha⁻¹ N increment grain production at peak levels. Excepting the variables mentioned above, the inoculation does not interfere with external morphological structure of corn plants. In other agronomic variables only the hybrids interfere due to genetic characteristics.

Keywords: Grain. Productivity. Urea. *Zea mays* L.

INTRODUÇÃO

Sustentada pela alta demanda mundial por alimentos, a produção de milho, segue em ritmo crescente ao longo das últimas décadas. Segundo dados da FAO (Food and Agriculture Organization), desde que começou o levantamento em 1961, a produção mundial cresceu aproximadamente 495%, passando das 200 milhões de toneladas para mais de um bilhão em 2013 (FAOSTAT, 2015). A alta demanda mundial é resultado, sobretudo, do alto uso do milho como ingrediente energético na ração animal, mas com crescimento acentuado no uso como fonte de energia, o etanol (MCPHAIL; DU; MUHAMMAD, 2012).

Como suporte para o aumento da produção mundial de milho, está o uso de tecnologias, dentre as quais está à seleção de novas cultivares e híbridos mais adaptados regionalmente e com maior potencial produtivo. Entretanto, a adubação nitrogenada, é o fator de maior destaque dentre as tecnologias, e desde que outros nutrientes não sejam limitantes, é capaz de provocar aumentos sensíveis da produtividade (BÜLL; CANTARELLA, 1993). De acordo com os mesmos, plantas bem nutridas em N possuem maior capacidade de fotossíntese relacionada à maior área foliar, favorecendo a assimilação de CO₂ e a síntese de carboidratos, beneficiando a produção.

A síntese de fertilizantes nitrogenados, principalmente ureia, usados na agricultura se dá basicamente através do petróleo, uma fonte não renovável e esgotável, de alto custo energético. Mesmo com manejo correto, perdas para o meio ambiente são praticamente

inevitáveis, ocasionando poluição e diminuindo a eficiência e sustentabilidade na agricultura. A utilização de microrganismos fixadores de N atmosférico em associação com o sistema radicular das plantas pode diminuir a necessidade de uso de fertilizantes nitrogenados (HUNGRIA; ARAUJO, 1994). Embora o gênero *Rhizobium* só consiga simbiose com leguminosas, outros microrganismos podem se associar com raízes das mais diferentes espécies de plantas, incluindo o milho (AZEVEDO, 1998).

Várias bactérias capazes de reduzir o N₂ foram descritas e seus efeitos sobre a fisiologia das plantas pesquisados, dentre as quais destacam-se as do gênero *Azospirillum*, mais especificamente *A. brasilense* (RADWAN; MOHAMED; REIS, 2004). Além de auxiliar na assimilação do nitrogênio, este gênero está associado ao efeito de produção de fitormônios nas raízes, aumentando o seu diâmetro e comprimento, auxiliando na absorção de nutrientes e água pela maior área explorada das mesmas.

Na cultura do milho, a inoculação com *Azospirillum brasilense* ocasiona aumento de peso dos grãos, produtividade e comprimento de espigas (CAVALLET et al., 2000). Entretanto, os efeitos da fixação de N e aumento da produção, decorrente da associação destas bactérias é dependente de acordo com o genótipo utilizado (DE SALOMONE; DÖBEREINER, 1996).

Realizou-se com este estudo a avaliação agrônômica em plantas de diferentes híbridos de milho sob o efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense*, em duas safras agrícolas e associadas a diferentes doses de nitrogênio em cobertura.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos anos agrícolas de 2013/2014 e 2014/2015, na área experimental do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). A área localiza-se na região fisiográfica conhecida como depressão central do estado do Rio Grande do Sul, com latitude -29,71'80'' Sul e longitude 53.73'31'' Oeste, com altura média de 95 m (IBGE, 2006).

O solo é classificado como Argissolo Vermelho Distrófico Arênico (horizontes A e Bt definidos), com textura média, bem drenado e com relevo levemente ondulado, pertencente à Unidade de Mapeamento São Pedro (EMBRAPA, 2013).

O clima característico, segundo classificação de Köppen-Geiger e descrito por Peel, Finlayson e McMahon (2007) é o Cfa, subtropical, sem estação seca e verões quentes. A temperatura média anual é de 18,8°C, com máximas no verão podendo chegar aos 40,2°C e

mínimas no inverno indo até $-2,9^{\circ}\text{C}$. A precipitação média anual é de 1589,3 mm (CEMETRS, 2015). Os dados climáticos durante o período experimental foram captados da estação meteorológica de observação de superfície automática do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), situada dentro da Universidade Federal de Santa Maria (Figura 1).

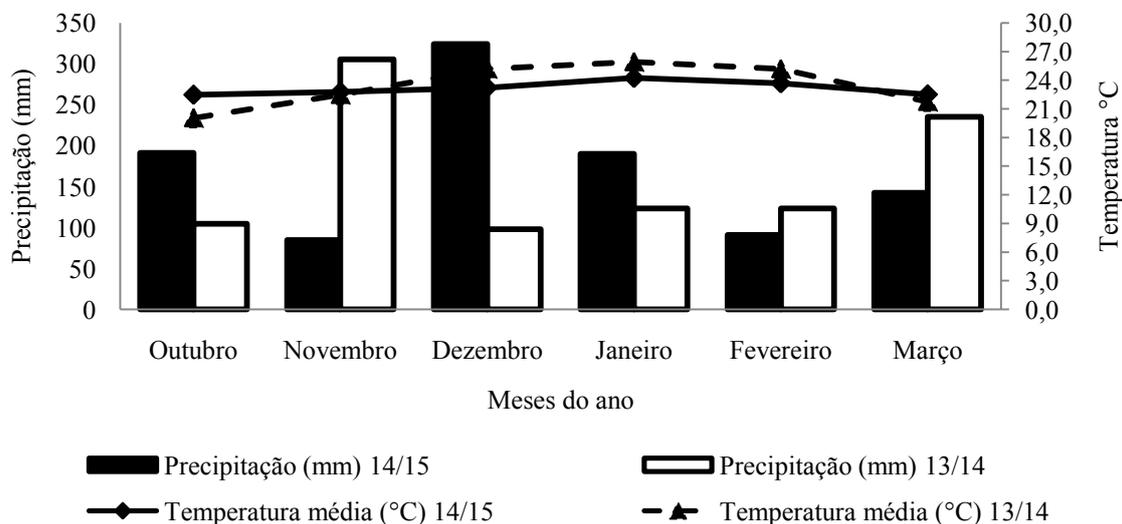


Figura 1- Médias climatológicas mensais da área experimental nos dois anos de cultivo para produção de grãos
Fonte: Estação automática do INMET na Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS

Nos meses de maio dos referidos anos agrícolas a área foi semeada com aveia preta (*Avena strigosa*) com a finalidade de cobertura de solo no sistema de plantio direto. No mês de julho, de ambos os anos, foram realizadas a amostragem de solo, na camada de 0 – 20 cm de profundidade, as quais foram enviadas para o laboratório de Solos da UFSM para análise dos atributos químicos (Tabela 1).

Tabela 1–Análise química do solo da área experimental nos dois anos de cultivo, Santa Maria, RS

Safr/Ano	Arg.	pH	CTC	Al	Ca	Mg	P	K	M.O	Bases
	%		-----cmol/dm ³ -----				--mg/dm ³ --		-----%-----	
2013/2014	23,0	5,0	7,5	0,7	4,5	2,1	17,5	84	2,2	47,8
2014/2015	24,0	5,2	9,9	0,6	6,2	2,8	12,6	108	2,4	67,5

Arg. = argila; pH = pH em água; CTC = capacidade de troca de cátions; Al = alumínio; Ca = cálcio; Mg = magnésio; P = fósforo; K = potássio; M.O = matéria orgânica; Bases = saturação por bases

-Registro no Departamento de solos – UFSM sob número 17185

A partir da recomendação da análise de solo na safra foi realizada a correção da acidez do solo com emprego de 3 t ha⁻¹ de calcário dolomítico com PRNT de 75% (CQFS-RS/SC, 2004). A área foi dessecada 30 dias antes da previsão do plantio com a aplicação de 3,0 Litros ha⁻¹ (1440 g ia/ha⁻¹) de glifosato.

Foram semeados dois híbridos de milho, o AS 1572TM PRO da Agroeste Sementes[®] com finalidade principal a produção de silagem e o, o AG 9030TM PRO da Agrocerees Sementes[®] com propósito principal a produção de grãos. Como características principais destes híbridos, o AS 1572 possui ciclo precoce, com porte médio, com grãos amarelos e de textura dentada, enquanto o AG 9030 é de ciclo superprecoce, com porte de planta baixo e com grãos alaranjados e de textura dura.

Na ocasião da semeadura, as sementes de milho foram inoculadas com a bactéria *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 isoladas e selecionadas por Hungria et al. (2010) na concentração de 2,0 x 10⁸ UFC mL⁻¹ com a utilização de 200 mL ha⁻¹ de inoculante (Azotal – Total Biotecnologia), diluído em água. Após a aplicação dos inoculantes sobre as sementes à sombra, estas foram homogeneizadas para que o inoculante entrasse em contato com todos os grãos, que foram semeados imediatamente após a secagem.

Para a semeadura utilizou-se uma semeadora de plantio direto com cinco linhas com espaçamento de 0,50m e regulada para obter-se 50% a mais do estande de plantas desejado, ou seja, 90.000 sementes ha⁻¹. Os tratamentos híbridos com e sem inoculação foram submetidos ao delineamento de blocos ao acaso, sendo que as linhas de cada híbrido com e sem inoculação foram dispostas, ao acaso, dentro de cada bloco. Primeiramente, foram semeadas as linhas das sementes sem tratamento e posteriormente as que receberam a inoculação, para não haver contaminação cruzada com o *A. brasilense*. A semeadura na safra 2013/2014 ocorreu no dia 16 de outubro de 2013 e a da safra 2014/2015 no dia 28 de outubro de 2014. Em ambas as safras foi utilizada uma mistura de cloreto de potássio e superfosfato triplo, com a finalidade de obter a formulação 0 – 30 – 20 de NPK. Em ambos os anos de cultivo, a adubação utilizada seguiu a recomendação para alta produtividade na cultura do milho, sem que o P e K fossem limitantes de produção, conforme recomendação do manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CQFS-RS/SC, 2004).

Na fase de V1 (1ª folha desenvolvida) foi aplicado herbicida seletivo do grupo químico das Triazinas, de ingrediente ativo ATRAZINE + SIMAZINE em suspensão concentrada através de equipamento costal. Essa aplicação teve por objetivo o controle inicial de algumas espécies de mono e dicotiledôneas, como por exemplo, capim colchão (*Digitaria*

horizontalis), Capim Pé-de-Galinha (*Eleusine indica*), Guanxuma (*Sida spp*), Picão Preto (*Bidens pilosa*), entre outros. Passados aproximadamente 15 dias após a germinação completa das sementes foi realizado o desbaste das plantas excedentes, dentro das parcelas experimentais, com o objetivo de obter população aproximada de 60.000 plantas ha⁻¹. Ainda, em ambos os anos (fase V6 na safra 2013/2014 e na fase V4-V5 na safra 2014/2015), foi aplicado nas entrelinhas, herbicida seletivo sistêmico de ingrediente ativo TEMBOTRIONA, para o controle do capim milhã (*Digitaria horizontalis*) e Capim-papuã (*Brachiariaplantaginea*).

Após a semeadura, no estágio VE (emergência) foi feita uma aplicação de 30 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia (45% N), aplicada na linha de cultivo, exceto para os tratamentos com 0 kg ha⁻¹ de N. A adubação de cobertura foi realizada com fertilizante nitrogenado, ureia agrícola (45% N), em dois estágios de desenvolvimento da cultura e dividiu-se a dosagem a ser aplicada em duas vezes, conforme os tratamentos: 0, 60, 120, 240 e 480 kg ha⁻¹ de N. A primeira aplicação ocorreu no estágio vegetativo com quatro folhas desenvolvidas (V4) e a segunda entre os estádios de seis a oito folhas desenvolvidas (V6-V8).

Foram tomadas medidas da área foliar de cinco plantas por tratamento de acordo com metodologia desenvolvida por SANGOI et al. (2007). As cinco plantas escolhidas ao acaso, as quais foram mensuradas todas as folhas que possuíam área verde maior que 50%, estavam nas linhas centrais das unidades experimentais. Essas mensurações foram realizadas no estágio reprodutivo (R1), isto é, no estágio de embonecamento e polinização, quando os estilos-estigmas estão visíveis. A área foliar foi calculada medindo o comprimento total da folha (cm), largura máxima da folha (cm). A área de cada folha é calculada pela equação a seguir:

$$AF=C \times L_{\text{máx.}} \times 0,75$$

Onde: AF = área foliar estimada; C = comprimento da folha; L_{máx.}= maior largura da folha e 0,75 é o fator da forma proposto por Francis et al.(1969).

Entre os estádios R5 e R6, utilizando a fileira destinada à colheita das espigas, três plantas foram escolhidas (4^a, 8^a e 12^a plantas em cada fileira/unidade experimental) para a mensuração, com uso de uma trena, da altura de inserção da espiga e altura total das plantas (até a inserção da folha bandeira). No mesmo momento, com uso de paquímetro digital, foi tomado o diâmetro de colmo, medido entre o primeiro e segundo entre nó da planta, contando a partir do solo. Após o estágio de maturação (R6), quando os componentes estruturais externos, como folhas, colmos, inflorescência e palha da espiga apresentavam-se secos, uma

das fileiras da parcela foi colhida. As plantas da fileira foram contadas, bem como o número de espigas colhidas. Assim obteve-se uma média de espigas/planta que gerou o índice de prolificidade e estande de plantas em cada unidade experimental.

Após a colheita e contagem de plantas, cinco espigas foram escolhidas aleatoriamente para a contagem do número de fileiras em cada espiga, bem como selecionada aleatoriamente uma fileira para a contagem do número de grãos, obtendo-se por multiplicação de ambos o número de grãos médio por espiga. Também, em cada espiga, efetuou-se a tomada de medida do comprimento, com régua graduada (mm) e diâmetro com auxílio de paquímetro digital.

Seguindo, todas as espigas, em cada unidade experimental colhida foram debulhadas com uso de uma debulhadora elétrica. O volume debulhado foi acondicionado em sacos plásticos para posterior pesagem em balança com precisão de 0,1 g para a obtenção da estimativa da produção de grãos em kg ha⁻¹. Posteriormente a pesagem, uma parte dos grãos foi utilizada para a medição da umidade, com uso de medidor de umidade de grãos GEHAKA AGRI G- 600. Após a aferição da umidade, o peso de grãos de cada parcela foi corrido para produção corrigida a 13% de umidade.

Outra amostragem de grãos foi feita em cada unidade experimentas, retirando-se 300 grãos de cada saco. Os grãos foram pesados e o peso utilizado para estimar a massa de mil grãos, corrigido a 13% de umidade.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso (BAC), com 20 tratamentos e três repetições cada. Os tratamentos ficaram distribuídos em um arranjo fatorial (2x2x5) composto por dois híbridos, inoculados ou não com *Azospirillum brasilense* e diferentes níveis de N (0, 60, 120, 240, 480 kg ha⁻¹). O seguinte modelo estatístico foi utilizado:

$$Y_{ijkl} = \mu + H_i + I_j + N_k + HI_{ij} + HN_{ik} + IN_{jk} + INH_{ijk} + \beta_l + \epsilon_{ijkl},$$

em que:

Y_{ijkl} : representa o valor observado que recebeu o tratamento de ordem “ijkl”; μ : representa a média geral obtida; H_i : representa o efeito dos Híbridos de ordem “i”; I_j : representa o efeito da inoculação de ordem “j”; N_k : representa o efeito do nitrogênio de ordem “k”; HI_{ij} : representa o efeito da interação entre híbrido e inoculação de ordem “ij”; HN_{ik} : representa o efeito da interação entre híbrido e doses de nitrogênio de ordem “ik”; IN_{jk} : representa o efeito da interação entre inoculação e doses de nitrogênio de ordem “jk”; INH_{ijk} : representa o efeito da interação entre híbridos, doses de nitrogênio e inoculaçãode ordem “ijk”; β_l : representa o

efeito dos blocos de ordem “l”; ϵ_{ijkl} : componente do erro aleatório associado ao i-híbrido, j- inoculação, k- dose de N e l- efeito de bloco.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e análise de variância (ANOVA) e posteriormente a análise de comparação múltiplas de médias pelo teste de Tukey, testando os fatores isoladamente e suas interações pelo procedimento Mixed (proc mixed). Quando significativas, as interações foram agrupadas de acordo com os tratamentos e então submetidas ao teste de comparação de médias pelo procedimento GLM (proc GLM). O fator safra agrícola foi incluído como variável aleatória no modelo, visto a falta de controle experimental e a impossibilidade de repetição no tempo.

Para as características avaliadas em função dos híbridos de milho e inoculação com *Azospirillum brasilense*, usou-se a comparação de médias, enquanto que as variáveis avaliadas em função das diferentes doses de N foram estimadas por equações de regressão com modelo geral, testando a curva linear e quadrática, sendo o critério de seleção do modelo o coeficiente de determinação (r^2) e o nível de significância (P). A significância foi considerada como $P \leq 0,05$ (95% de probabilidade), sendo todos os testes feitos com a utilização do programa estatístico SAS, versão 9.2 (SAS, 2008) enquanto gráficos com o suporte do programa Microsoft Excel (EXCEL, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apenas na safra 2013/14 foi observada uma pequena estiagem no mês de dezembro, sendo observada perda de turgência das folhas por dois a três dias, quando temperatura alta. Na safra 2013/2014 foram 1023 mm acumulados de chuva, do dia da semeadura até a colheita das espigas, enquanto na safra 2014/2015 ocorreu precipitação de 990 mm, sendo que em ambas as safras foram superadas a necessidade da cultura (600 mm), de acordo com (ALDRICH; SCOTT; LENG, 1982). A aplicação dos herbicidas garantiu total desenvolvimento da cultura sem que houvesse competição por nutrientes com plantas daninhas. O estande médio de plantas foi de 60766 plantas ha^{-1} , não havendo diferença entre os tratamentos.

O híbrido AS1572 respondeu positivamente a inoculação para grande parte das variáveis ligadas a produção de grãos (Tabela 2). A inoculação com *A. brasilense* neste híbrido produziu quase uma tonelada de grãos a mais por hectare, 12% a mais quando comparado ao mesmo híbrido sem inoculação. O incremento na produção com a inoculação

no AS 1572 foi atribuído ao aumento do número de grãos por fileira e conseqüentemente o número total de grãos por espiga ($P < 0,05$) o que conseqüentemente eleva o peso de grãos por espiga. Segundo Magalhães e Durães (2006), a determinação do número de grãos por espiga acontece quando há a iniciação floral e desenvolvimento da inflorescência (V17). A falta de água e nutrientes neste período e no estágio R1, quando há a fertilização dos óvulos, é crucial para a produtividade, o que parece ser atenuada com a inoculação no híbrido AS 1572. Não foram observados efeitos ($P > 0,05$) da inoculação com *Azospirillum brasilense* sobre o híbrido AG 9030 nas variáveis, produção de grãos, massa de mil grãos, grãos por fileiras e grãos por espiga.

Tabela 2- Efeitos da interação entre cultivares de milho e inoculação com *Azospirillum brasilense* sobre a produção de grãos, massa de mil grãos, número de grãos por fileira, número de grãos por espiga e massa de grãos por espiga (gr)

Variáveis	AS 1572		AG 9030		Pr> F	EP*
	<i>Azospirillum</i>	Controle	<i>Azospirillum</i>	Controle		
Produtividade ¹	8,928 ^a	7,950 ^b	8,982 ^a	9,088 ^a	0,0375	0,15
Massa mil grãos (gr)	322,37 ^{bc}	318,92 ^c	336,85 ^{ab}	341,22 ^a	0,0082	1,81
Grãos/fileira	32,99 ^a	31,16 ^b	28,69 ^c	28,48 ^c	<,0001	0,34
Grãos/espiga	544,04 ^a	515,76 ^b	467,14 ^c	465,83 ^c	<,0001	6,30
Massa grãos/espiga	175,38 ^a	164,48 ^b	156,90 ^c	158,56 ^c	<,0001	3,32

¹ = Produção de grãos corrigida a 13% de umidade (toneladas ha⁻¹); *EP= Erro padrão da média; Pr>F = Significativo pelo teste de Tukey, quando menor ou igual a 0,05

Acréscimos na produtividade de grãos com a inoculação também foram observados por Hungria et al. (2010), com ganhos de até 823 kg ha⁻¹ quando comparado ao tratamento sem inoculação e utilizando as mesma estirpes e dosagens deste trabalho. Quadros et al. (2014) comparando 3 diferentes híbridos inoculados com uma mistura de isolados do gênero *Azospirillum* encontraram resposta positiva de 750 kg ha⁻¹ em produção de grãos em uma cultivar, enquanto em outra a inoculação aumentou o rendimento de MS da parte aérea das plantas. Lana et al. (2012) encontraram aumento de produtividade em milho de quase 500 kg ha⁻¹ quando inoculado com *Azospirillum*, confirmando os benefícios da inoculação na cultura. Em um estudo de revisão de 20 anos da utilização de *Azospirillum*, Okon e Labandera-Gonzalez (1994) constataram a eficiência da inoculação sobre a produtividade em 60 a 70% dos casos e com 5 a 30% de incremento na produtividade em diferentes condições de solo e clima.

Existe associação das estirpes de *Azospirillum brasilense* utilizadas neste experimento com o híbrido AS1572. Embora o melhoramento genético de híbridos seja geralmente voltado para a utilização de grande quantidade de adubação nitrogenada (REIS JUNIOR; TOLEDO, 2008) (ARAÚJO et al., 2013), atenção especial deveria ser dada pelos geneticistas para o melhoramento de novos híbridos que possam associar-se à bactérias diazotróficas, a fim de incrementar a produção. A qualidade de inoculantes, visando a eficiência da inoculação, depende do número de células viáveis (OKON; LABANDERA-GONZALEZ, 1994), e diferentes doses, também devem ser incluídas em estudos próximos, pois pode haver subdosagens para alguns híbridos ou cultivares, o que acaba não influenciando a produtividade das culturas testadas.

O híbrido AG 9030 apresentou maior massa de mil grãos ($P < 0,0001$) quando comparado a média do híbrido AS 1572 (338,7 e 320,1 gramas, respectivamente). Entretanto, apesar de apresentar maior peso de grãos, foram inferiores ($P < 0,0001$) as variáveis, número de grãos por fileira e número de grãos por espiga, o que justifica a mesma produtividade observada para os híbridos. As diferenças descritas devem-se as características de cada híbrido, visto que o híbrido AS 1572 possui aptidão dupla (grãos e silagem), enquanto o AG 9030 com finalidade para grãos. A partição dos nutrientes realizados pela fotossíntese na fase reprodutiva e enchimento de grãos se dá de forma diferente para cada híbrido. Enquanto híbridos para grãos priorizam o acúmulo de nutrientes nos grãos, híbridos voltados para silagem enviam nutrientes para enchimento dos grãos e produção de massa verde (COSTA et al., 2008).

Para as diferenças na massa dos grãos, há de se salientar também que os dois híbridos apresentam classificação de grão diferente, duro e dentado para o AG 9030 e AS 1572, respectivamente. Milhos duros possuem maior relação endosperma vítreo:farináceo, o que ocasiona maior massa após a retirada da umidade. Isto ocorre visto o envolvimento dos grânulos de amido por uma matriz protéica densa, o que não ocorre no milho dentado, onde os grânulos estão envolvidos pela umidade, que no processo de secagem é retirada, deixando espaço vago (PAES, 2006).

A produtividade (ton. de grãos ha^{-1}) teve comportamento quadrático frente ao aumento das doses de nitrogênio aplicado em cobertura e este efeito está correlacionado ao aumento do peso dos grãos e a adubação nitrogenada influencia nas duas variáveis (figura 2). A máxima resposta em produtividade de grãos, aproximadamente $9.500 \text{ kg } ha^{-1}$, foi alcançada com doses próximas a $290 \text{ kg } ha^{-1}$ de N. Dosagens maiores acabam não resultando em aumento de produção, visto haver diminuição da eficiência, ou seja, diminuição da recuperação do N em

produção, com o aumento das doses (LIANG; MACKENZIE, 1994). A diminuição da eficiência se deve á vários fatores, dentre eles a incorporação do amônio a matéria orgânica do solo (FERNANDES et al., 1998), genótipo utilizado (FERNANDES et al., 2005), manejo da área, tipo de solo e clima (LIANG; MACKENZIE, 1994).

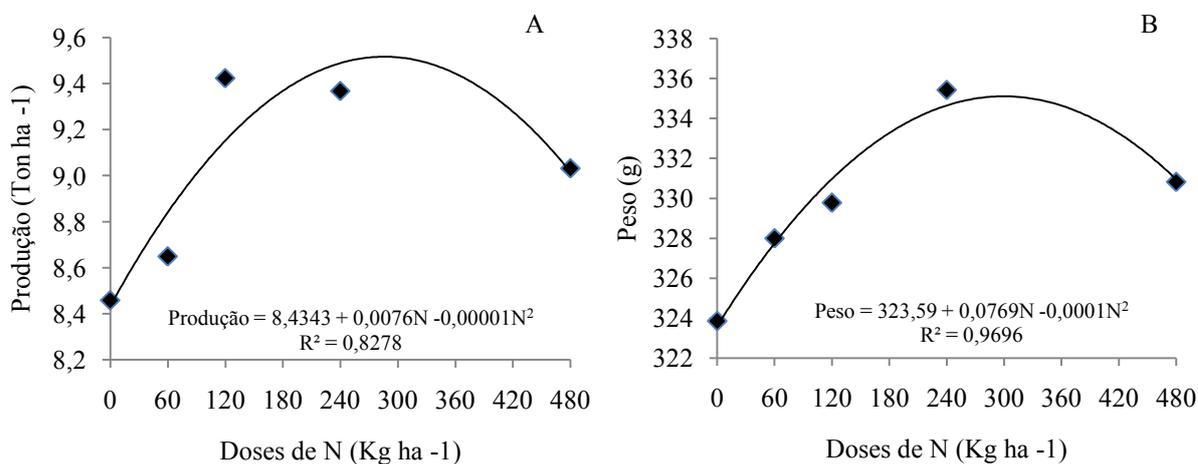


Figura 2- Produção (A) e massa de mil grãos (B) corrigidos a 13% de umidade de híbridos de milho submetidos a diferentes doses de N em cobertura

Coelho et al. (1992) trabalharam com doses de 0 a 240 Kg ha⁻¹ de N encontraram aumento de 80% na produtividade de grãos com doses de até 120 Kg ha⁻¹ e produção máxima com 219 Kg ha⁻¹. Para os mesmos autores a resposta da cultura de milho a adubação nitrogenada é dependente da quantidade residual de N mineral do solo. Fernandes et al. (2005) encontraram máxima resposta em produtividade com doses de 110 Kg ha⁻¹ de N na forma de ureia, em uma única aplicação.

O peso dos grãos também teve comportamento quadrático frente ao aumento das doses de N, comportamento similar ao da produtividade, com peso máximo atingido quando a adubação foi em torno de 300 Kg ha⁻¹ de N. Dotto et al. (2012) também encontraram resposta positiva na massa de grãos com aumento da adubação nitrogenada em cobertura com crescimento a partir da dose máxima testada (80 Kg de N ha⁻¹). Fernandes et al. (2005), avaliando seis híbridos e suas respostas frente a diferentes doses de N (0, 50, 100, 150 e 200Kg ha⁻¹ de N) , citam que o número de grãos por espiga e a massa dos mesmos são fatores determinantes na produtividade de grãos da cultura do milho e que ambos os fatores estudados influenciam marcadamente nas duas variáveis resposta.

A análise de correlação feita por este estudo comprova que existe uma forte relação positiva ($r = 0,66$; $P < 0,0001$) entre produção e a massa de mil grãos, entretanto, ao contrário do último trabalho citado não foi observada correlação entre o número de grãos por espiga e a produção de grãos. Ainda, foi observada correlação negativa ($r = -0,36$; $P < 0,0001$) entre o número de grãos por espiga e a massa de mil grãos. A definição da densidade dos grãos ocorre no estágio R3 e esta ligada a condições climáticas. O estresse hídrico e a falta de luminosidade, que impede a elaboração de foto assimilados, implicam na redução da taxa de acúmulo da matéria seca dos grãos (MAGALHÃES; DURÃES, 2006).

O híbrido AS 1572 apresentou maior diâmetro e comprimento de espigas, altura de planta e diâmetro de colmo, enquanto a prolificidade foi inferior ao AG 9030 (Tabela 3). A inoculação com *A. brasilense* não afetou ($P > 0,05$) o comprimento e o diâmetro da espigas, tampouco a altura da planta e altura da inserção das espigas, o diâmetro basal do colmo e a prolificidade nos diferentes híbridos testados.

Tabela 3- Efeitos dos diferentes híbridos e a inoculação com *Azospirillum brasilense* sobre o comprimento de espiga (Comp.esp), altura da espiga (Alt.esp), altura da planta (Alt.pla) e diâmetro do colmo (D.col) em cm^{-1} , diâmetro de espiga (Diam.esp) em mm^{-1} e prolificidade (Prol) em %

Fator	Tratamento	Variáveis					
		Com.esp	Alt.esp	Diam.esp.	Alt.pla	D.col	Prol.
Cultivar	AS1572	15,88	135,9	48,88	242,1	2,104	0,911
	AG9030	15,25	110,4	47,14	210,0	1,899	0,976
	Pr> F	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
Inoculação	Sim	15,60	122,8	48,10	225,4	1,980	0,948
	Não	15,52	123,6	47,93	226,8	2,023	0,939
	Pr> F	0,6129	0,6479	0,3728	0,6267	0,1760	0,1948
Estatística	EP*	0,15	1,63	0,19	6,80	8,21	0,01

*EP= Erro padrão da média; Pr>F = Significativo pelo teste de tukey, quando menor ou igual a 0,05

Lana et al. (2012) e Dartora et al. (2013) estudando a inoculação e diferentes doses de N também não encontraram respostas significativas na altura média das plantas e na altura de inserção da espiga. Já para a variável diâmetro de colmo, Dartora et al., (2013) encontraram resposta positiva da inoculação com uma mistura de *A. brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*. Todavia, no trabalho acima citado, isoladamente a inoculação com *A. brasilense* não afetou o diâmetro de colmo, enquanto que *H. seropedicae* isolada não diferiu da mistura testada. Já Dotto et al., (2010) não observaram efeito da inoculação com *H. seropedicae* no

diâmetro de colmo. A resposta da inoculação na variável supracitada é incerta e parece ser dependente de outros fatores e não atribuída a inoculação.

O diâmetro e comprimento da espiga são diretamente influenciados pelo enchimento, tamanho dos grãos, número de fileiras e quantidade de grãos/fileira (CIVARDI et al., 2011), além da produção de gametas em conjunto dos órgãos sexuais das plantas. Estas características, no presente estudo, estão ligadas somente ao tipo híbrido, sem influência da adubação com N ou inoculação. A formação da espiga aconteceu de forma diferente nos dois híbridos, visto as diferenças de ciclo, já que genótipos mais precoces têm um período mais curto de tempo no estágio de estabelecimento no número de grãos e tamanho de espiga (V12 ao V17) (MAGALHÃES; DURÃES, 2006).

Não houve influência dos níveis de nitrogênio e da inoculação com *Azospirillum brasilense* sobre a área foliar (AF) das plantas. Esta somente variou entre os diferentes híbridos, sendo maior na cultivar AS 1572, que obteve AF de 4,97, frente o AG 9030, o qual apresentou AF de 4,51 ($P < 0,0001$). Dartora et al. (2013) também não observaram efeitos da inoculação na área foliar das plantas de milho. Para Argenta et al. (2002) a área foliar possui baixa correlação com a produtividade de grãos ou teor de N na planta. Wolschick et al. (2003) estudaram a influência de diferentes regimes de chuva, épocas e doses de adubação nitrogenada e concluíram que não existe relação marcante, exceto doses com 0 de N, da adubação na área foliar das plantas.

CONCLUSÕES

A inoculação com *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 incrementa a produtividade de grãos de milho e influencia algumas variáveis agronômicas relacionadas. Os benefícios da inoculação mostram-se dependentes do híbrido utilizado, evidenciando a associação das estirpes e o híbrido AS 1572 aumentando a produção em quase 1 tonelada a mais por hectare.

Independente do genótipo ou inoculação, a adubação nitrogenada incrementa a produtividade da cultura por aumentar a massa dos grãos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O.; LENG, E.R. **Modern corn production**. 2.ed. Champaign: A & L Publication, 1982. 371 p.

ARGENTA, G. et al. Parâmetros de planta como indicadores do nível de nitrogênio na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 519-527, 2002.

AZEVEDO, J. L. Microrganismos endofíticos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: EMBRAPA, p. 117-137, 1998.

BÜLL, L. T.; CANTARELLA, H. **Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade**. POTAFOS, Piracicaba, 1993.

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

CENTRO ESTADUAL DE METEOROLOGIA – CEMETRS. **Precipitação pluviométrica**. Acesso em 28 de out. 2015. Disponível em: http://www.cemet.rs.gov.br/conteudo/3933/?5_-_Precipita%C3%A7%C3%A3o.

CIVARDI, E. A. et al. Ureia de liberação lenta aplicada superficialmente e ureia comum incorporada ao solo no rendimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 1, p. 52-59, 2011.

COELHO, A. M. et al. Doses e métodos de aplicação de fertilizantes nitrogenados na cultura do milho sob irrigação. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 16, n. 1, p. 61-67, 1992.

COMISSAO DE QUIMICA E FERTILIDADE DO SOLO DO RS/SC – CQFS-RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: SBCS- NRS,2004.400p.

COSTA, E. F. N., et al. Herança da senescência retardada em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 207-213, 2008.

DARTORA, J. et al. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 1023-1029, 2013.

ARAUJO, F. F. et al. Híbridos e variedades de milho submetidos à inoculação de sementes com *Herbaspirillum seropedicae*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 3, p. 1043-1054, 2013.

DE SALOMONE, I. G.; DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology and fertility of soils**, v. 21, n. 3, p. 193-196, 1996.

DOS REIS JUNIOR, F. B.; DE TOLEDO, C. T. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 32, n. 3, p. 1139-1146, 2008.

DOTTO, A. P. et al. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária) Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 5, n. 3, p. 376-382, 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisas de Solos**. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3.ed. Rio de Janeiro, 2013. 353p.

FERNANDES, F. C. S. et al. Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 4, n. 2, p. 195-204, 2005.

FERNANDES, L. A. et al. Preparo do solo e adubação nitrogenada na produtividade do milho em latossolo sob vegetação de cerrado. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 22, n. 2, p. 247-254, 1998.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Production**. Roma - Italy, 2015. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>. Acesso em: 22 Aug. 2015.

FRANCIS, C.A.; RUTGER, J.N.; PALMER, A.F.E. A rapid method for plant leaf area estimation in maize (*Zea mays* L.). **Crop Science**, v 9, p. 537-539, 1969.

HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. Lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa/SPI, 1994.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Mapas Temáticos: Relevo**. Disponível: <ftp://geoftp.ibge.gov.br/mapas_tematicos/mapas_murais/relevo_2006.pdf>. Acesso em 16/08/15.

LANA, M. C. et al. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012.

LIANG, B. C.; MACKENZIE, A. F. Corn yield, nitrogen uptake and nitrogen use efficiency as influenced by nitrogen fertilization. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 74, n. 2, p. 235-240, 1994.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F.O.M. **Fisiologia da produção de milho**. Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

MCPHAIL, L. L.; DU, X.; MUHAMMAD, A. Disentangling corn price volatility: The role of global demand, speculation, and energy. **Journal of agricultural and applied economics**, v. 44, n. 03, p. 401-410, 2012.

MICROSOFT OFFICE EXCEL 2007. **User's Guide**. Redmond, WA. 2006.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, n. 12, p. 1591-1601, 1994.

PAES, M.C.D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 2006.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences Discussions**, v. 4, n. 2, p. 439-473, 2007.

QUADROS, P. D. et al. Field agronomic performance of maize hybrids inoculated with *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.

RADWAN, T. E.E.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 39, n. 10, p. 987-994, 2004.

SANGOI, L.; SCHMITT, A.; ZANIN, C.G. Área foliar e rendimento de grãos de híbridos de milho em diferentes populações de planta. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.6, p.263-271, 2007.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS/STAT® 9.2 **User'sGuide**. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2008.

WOLSCHICK, D. et al. 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, n. 3, p. 461-468, 2003.

5. DISCUSSÃO GERAL

De maneira geral, a inoculação com *A. brasilense* na cultura do milho parece surtir efeitos mais expressivos durante o início da fase de reprodução das plantas. Isto foi demonstrado no primeiro artigo, quando a aceleração do crescimento e acúmulo de biomassa das plantas para silagem ocorreu principalmente no início do pendoamento (estádio VT), provocando crescimento mais acelerado nas plantas. Da mesma forma, ocorreu quando a inoculação foi testada para fins de produção de grãos, visto esta surtir efeitos no número de grãos por fileira e por espiga. A inoculação é capaz de alterar a morfologia externa das plantas para ensilagem, o que pode alterar a qualidade nutricional do alimento, entretanto esta alteração é dependente da interação genótipo e bactéria.

O crescimento das plantas está associado a produção de hormônios que lhe asseguram a regulação metabólica necessária para a translocação e partição de nutrientes de maneira equilibrada, assegurando o desenvolvimento normal dos tecidos (TAIZ ;ZEIGER, 2013). A produção de fitormônios quando as sementes das plantas são submetidas a inoculação com bactérias diazotróficas, inclusive com bactérias do gênero *Azospirillum* utilizadas neste trabalho já foram comprovadas na literatura (STEENHOUDT; VANDERLEYDEN, 2000). O principal hormônio capaz de provocar crescimento normal em vegetais superiores é o ácido indolil-3-acético (AIA) (STOUT; BERNASCONI; MURPHY, 2013), o qual já foi observado em plantas inoculadas com *A. brasilense* (TIEN et al., 1979).

Embora a definição o potencial produtivo de grãos das plantas de milho, definido entre outros fatores pela quantidade de grãos por espiga, seja formado nas primeiras semanas após a germinação das sementes, a quantidade de grãos viáveis só acontecerá durante o início da fase reprodutiva das plantas (MAGALHÃES; DURÃES, 2006) e é altamente dependente de condições climáticas ideais e de disponibilidade de nutrientes. Visto a produção de AIA ocorrer também nas raízes, este hormônio pode estar associado ao melhor desenvolvimento radicular das plantas promovendo melhor absorção de nutrientes e resistência das plantas (DAVISON, 1988). Juntos a produção de AIA, que tanto pode ocorrer na parte aérea quanto nas raízes, a melhora na absorção de nutrientes e a fixação biológica de N relatados em estudos anteriores pode ter sido a causa no incremento da produção neste trabalho.

Há de se destacar que a eficiência da inoculação neste trabalho foi dependente do genótipo utilizado, mas que também pode ser dependente de condições de solo, clima, e

manejo da área de cultivo (MOREIRA et al., 2010). A ocorrência da interação de bactérias diazotróficas com determinados genótipos ocorre devido a colonização das raízes das plantas envolver uma série de artifícios que a planta realiza no intuito de atrair estes microrganismos. Compostos fenólicos – principalmente flavonóides – são a peça chave na atração para estabelecer a interação (BADRI et al., 2009).

É preciso haver cautela na recomendação de níveis de adubação nitrogenada para a cultura do milho, visto assegurar a sustentabilidade do sistema produtivo. Em ambas as finalidades de produção aqui pesquisadas, silagem e grãos, e doses (0, 60, 120, 240 e 480 Kg ha⁻¹ de N) na forma de ureia em cobertura, a mínima dosagem que pode ser recomendada a fim de garantir produção expressiva é de 120 Kg ha⁻¹ de N. Deve-se salientar que ambos os híbridos possuem capacidade diferenciada de conversão deste nutriente em produção, como já foi observado na literatura (DE MENEZES ET AL., 2013). A recomendação de N para a cultura do milho deve ser regionalizada levando em conta expectativa de rendimento, condições físicas e químicas, manejo anterior na área e eficiência do fertilizante (FONTOURA: BAYER, 2009).

Neste trabalho não foram observados efeitos expressivo da adubação nitrogenada na morfologia externa das plantas, tanto no primeiro quanto no segundo trabalho. Apesar disso, a adubação nitrogenada teve papel fundamental na produção de biomassa e produção de grãos com doses entre 120 e 240 Kg ha⁻¹ de N, mas parece ter sua eficiência diminuída com doses maiores. De Menezes et al. (2013) conclui que doses expressivas de N acabam por não responder em aumento de produtividade pela diminuição da eficiência de uso e recuperação do N aplicado.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inoculação com *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 tem importante papel no cultivo de milho tanto para fim de produção de silagem quanto para finalidade de produção de grãos. A inoculação pode ser considerada como aditivo no auxílio a absorção de nutrientes e desenvolvimento das plantas, visto ocasionar maior produtividade de forragem para silagem e maior produtividade de grãos por área, aumentando a eficiência de produção da cultura e utilização de insumos.

Para silagem, além de aumentar a produção de matéria seca por área, a inoculação pode alterar os componentes morfológicos externos das plantas, o que pode alterar a composição bromatológica e fermentativa das silagens. No que tange a produção de grãos, essa tecnologia possui capacidade de aumentar a produção de grãos (Kg ha⁻¹), através do incremento do número de grãos por espiga associado a melhor absorção de nutrientes no solo. É importante destacar que a eficiência da inoculação é dependente da associação com o genótipo utilizado.

O genótipo possui capacidade de alterar fortemente a produção e qualidade de silagem, além da produção de grãos. É preciso planejamento antes do estabelecimento do cultivo quanto à escolha de híbridos ou cultivares afim de não comprometer o potencial produtivo e a qualidade da produção.

Quanto a adubação nitrogenada de cobertura é preciso avaliar a capacidade produtiva da área e do genótipo antes da recomendação das dosagens necessária durante o cultivo. Através deste trabalho pode-se inferir que dosagens mínimas necessárias para garantir boa produtividade de silagem e grãos são em torno de 120 Kg ha de N, quando o fertilizante utilizado é a ureia. O aumento das doses depende das condições supracitadas e devem levar em conta a reposição de nutriente, principalmente quando a finalidade de produção é a silagem.

7. REFERÊNCIAS

- AKINS, M. S.; SHAVER, R. D. Influence of corn silage hybrid type on lactation performance by Holstein dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 12, p. 7811-7820, 2014.
- AMARAL FILHO, J. P. R. et al. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 3, p. 467-473, 2005.
- ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. **Microrganismos de importância agrícola**. EMBRAPA-CNPAC; Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994, 233 pág.
- ARRIOLA, K. G. et al. Stay-green ranking and maturity of corn hybrids: Effects on dry matter yield, nutritional value, fermentation characteristics, and aerobic stability of silage hybrids in Florida. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 2, p. 964-974, 2012.
- BADRI, D. V. et al. Rhizosphere chemical dialogues: plant-microbe interactions. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 20, n. 6, p. 642-650, 2009.
- BAL, M. A. et al. Corn silage hybrid effects on intake, digestion, and milk production by dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 83, n. 12, p. 2849-2858, 2000.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, n. 3, p. 549-579, 2005.
- BALLARD, C. S. et al. Effect of corn silage hybrid on dry matter yield, nutrient composition, in vitro digestion, intake by dairy heifers, and milk production by dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 84, n. 2, p. 442-452, 2001.
- BASHAN, Y.; LEVANONY, H. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: Azospirillum as a challenge for agriculture. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 36, n. 9, p. 591-608, 1990.
- BERNARDES, T.F. Levantamentos das práticas de produção e uso de silagens em fazendas produtoras de leite no Brasil. **Ebook**. Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras MG, v. 1, nº 1, 17 pág., 2012.
- BHATTACHARJEE, R. B.; SINGH, A.; MUKHOPADHYAY, S. N. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 80, n. 2, p. 199-209, 2008.
- BODDEY, R. M.; VICTORIA, R. L. Estimation of biological nitrogen fixation associated with *Brachiaria* and *Paspalum* grasses using ¹⁵N labeled organic matter and fertilizer. **Plant and Soil**, v. 90, n. 1-3, p. 265-292, 1986.
- BRISKE, D.D.; HEITSCHMIDT, R.K. An ecological perspective. In: HEITSCHMIDT, R.K., STUTH, J.W. **Grazing management: An ecological perspective**. Oregon: Timber Press, p.11-26, 1991.

- CABEZAS, W.A.R.L. et al. Influência da cultura antecessora e da adubação nitrogenada na produtividade de milho em sistema plantio direto e solo preparado. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1005-1013, 2004.
- CALONEGO, J. C. et al. Produtividade e crescimento de milho em diferentes arranjos de plantas. **Agrarian**, v. 4, n. 12, p. 84-90, 2011.
- CANUTO, E. L. et al. Respostas de plantas micropropagadas de cana-de-açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas. **Agronomia**, v. 37, n. 2, p. 67-72, 2003.
- CAVALLET, L. E. et al. Corn productivity in response to nitrogen application and seed inoculation with *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 1, p. 129-132, 2000.
- CECATO, U. et al. Produção e qualidade da consorciação de coastcross com amendoim forrageiro adubada com nitrogênio em diferentes estratos sob pastejo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 4, p. 867- 880, 2011.
- COELHO, A. M. Nutrição e adubação do milho. **Embrapa Milho e Sorgo**. Circular técnica, 2006.
- COMISSAO DE QUIMICA E FERTILIDADE DO SOLO DO RS/SC – CQFS-RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: SBCS- NRS, 2004. 400p.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Levantamentos de safra**. Brasília-BR. 2015. Disponível em:<<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&>>. Acesso em: 15 nov. 2015.
- DAVISON, J. Plant beneficial bacteria. **Nature Biotechnology**, v. 6, n. 3, p. 282-286, 1988.
- DE GODOY, J. C. S. et al. Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio com e sem inoculação das sementes com *Azospirillum* brasilense. **Campo Digital**, v. 6, n. 1, p. 26-30, 2011.
- DE PADUA CRUZ, A.; CABEZAS, W.A.R.L. **Adubação nitrogenada da cultura do milho**. Comunicação pessoal. Uberlândia-MG. S/D.
- DE SALAMONE, I. G. et al. Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain-maize genotype associations as evaluated by the ¹⁵N isotope dilution technique. **Biology and Fertility of Soils**, v. 23, n. 3, p. 249-256, 1996.
- DE SALOMONE, I. G.; DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology and fertility of soils**, v. 21, n. 3, p. 193-196, 1996.
- DÍAZ-ZORITA, M.; FERNANDEZ, C. M. V. Análisis de la producción de cereales inoculados com *Azospirillum brasilense* em la República Argentina. **Azospirillum sp.:** cell

physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, p. 155-166, 2008.

DOBBELAERE, S.; OKON, Y. The plant growth-promoting effect and plant responses. In: **Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations**. Springer Netherlands, 2007. p. 145-170.

DÖBEREINER, J.; DAY, J. M.; DART, P. J. Fixação de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum notatum* e da cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 8, n. 7, p. 153-157, 1973.

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D. Effects of whole-plant corn silage hybrid type on intake, digestion, ruminal fermentation, and lactation performance by dairy cows through a meta-analysis. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 4, p. 2662-2675, 2015.

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D. Meta-analysis: Effect of corn silage harvest practices on intake, digestion, and milk production by dairy cows. **The Professional Animal Scientist**, v. 28, n. 2, p. 141-149, 2012.

FERREIRA, G. D. G. et al . Valor nutritivo da silagem de dez híbridos de milho. **Acta Scientiarum, Animal Science**, Maringá , v. 33, n. 3, p. 255-260, Sept. 2011 . Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-86722011000300005&lng=en&nrm=iso. Acesso em 01 Dec. 2015.

FONTOURA, S. M. V. ; BAYER, C. Adubação nitrogenada para alto rendimento de milho em plantio direto na região centro-sul do Paraná. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 33, n. 6, p. 1721-1732, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Production**. Roma - Italy, 2015. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>. Acesso em: 22 Aug. 2015.

GALVÃO, J.C.C; MIRANDA, G.V. **Tecnologias de produção do milho: economia, cultivares, biotecnologia, safrinha, adubação, quimização, doenças, plantas daninhas e pragas**. Viçosa:UFV, 2004. 366p.

GROSS, M. R.; VON PINHO, R. G.; DE BRITO, A. H. Adubação nitrogenada, densidade de semeadura e espaçamento entre fileiras na cultura do milho em sistema plantio direto. **Ciências agrotécnicas**, v. 30, n. 3, p. 387- 393, 2006.

HAYAT, R. et al. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. **Annals of Microbiology**, v. 60, n. 4, p. 579-598, 2010.

HEITSCHMIDT, R. K.; STUTH, J. W. **Grazing management: an ecological perspective**, Timber Press, p. 11-26, 1991.

HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. Lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Circular Técnica. Embrapa Soja, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and fertility of soils**, v. 49, n. 7, p. 791-801, 2013.

LARA CABEZAS, W. A. R. et al. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura de milho, em sistema plantio direto no Triângulo Mineiro (MG). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 2, p. 363-376, 2000.

LEMAIRE, G.; GASTAL, F. N. N. Uptake and distribution in plant canopies. In: LEMAIER, G. (Org.). **Diagnosis of the nitrogen status in crops**. Berlin: Springer, 1997. p. 1-56.

MALAVOLTA, E. Absorção e transporte de íons e Nutrição mineral. In: FERRI, M.G. **Fisiologia vegetal**, Vol. 1.2ª Ed. revista e atualizada. São Paulo: EPU, 1985. cap. 2, p. 77-114.

MARIN, V. A.; TEIXEIRA, K. R. S.; BALDANI, J. I. Characterization of amplified polymerase chain reaction glnB and nifH gene fragments of nitrogen-fixing Burkholderia species. **Letters in applied microbiology**, v. 36, n. 2, p. 77-82, 2003.

METIVIER, J.R. Citocininas. In: FERRI, M.G. **Fisiologia vegetal**. Vol. 2.2ª Ed. revista e atualizada. São Paulo: EPU, 1986. cap. 4, p. 93-129.

METIVIER, J.R. Giberelinas. In: FERRI, M.G. **Fisiologia vegetal**. Vol. 2.2ª Ed. revista e atualizada. São Paulo: EPU, 1986. cap. 4, p. 129-162.

MORAIS, R. F. et al. Contribution of biological nitrogen fixation to Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Plant and soil**, v. 356, n. 1-2, p. 23-34, 2012.

MOREIRA, F. M. et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74- 99, 2010.

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.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, n. 12, p. 1591-1601, 1994.

PAES, M. C. D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

PINAZZA, L.M. Perspectivas da cultura do milho e do sorgo no Brasil. In: BÜLL, L. T.; CANTARELLA, H. **Cultura do milho**: fatores que afetam a produtividade. POTAFOS, Piracicaba, 1993.

PIOVESAN, V.; OLIVEIRA, V.; GEWEHR, C. E. Milhos com diferentes texturas de endosperma e adição de alfa-amilase na dieta de leitões. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 11, p. 2014-2019, Nov. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782011001100027&lng=en&nrm=iso>. accesson 10 Nov. 2015.

RANUM, P.; PEÑA-ROSAS, J. P.; GARCIA-CASAL, M. N. Global maize production, utilization, and consumption. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1312, n. 1, p. 105-112, 2014.

RUDNICK, P. et al. Regulation of nitrogen fixation by ammonium in diazotrophic species of proteobacteria. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5, p. 831-841, 1997.

SCHRIMPF, K. **Maize**: cultivation and fertilization. Series on monographs on tropical and subtropical crops. Stuttgart - AG. Ruhr - Stickstoff AG, 1966. 172 pág.

SILVA, D. A. et al. Culturas antecessoras e adubação nitrogenada na cultura do milho, em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 5, n. 01, p. 75- 88, 2010.

SOUZA, J. A. et al. Adubação nitrogenada na cultura do milho safrinha irrigado em plantio direto. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 447-454, 2011.

SOUZA, P.M.; BRAGA, M.J. Aspectos econômicos da produção e comercialização do milho no Brasil. In: GALVÃO, J.C.C., MIRANDA, G.V. **Tecnologias de produção do milho**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2004, 366p.

STEENHOUDT, O.; VANDERLEYDEN, J. Azospirillum, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS microbiology reviews**, v. 24, n. 4, p. 487-506, 2000.

TIEN, T. M et al. Plant growth substances produced by Azospirillumbrasilense and their effect on the growth of pearl millet (Pennisetum americanum L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 37, n. 5, p. 1016-1024, 1979.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **World Agricultural Supply and Demand Estimates**. Washington-USA, 2015. Disponível em: <<http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>>. Acesso em: 9 dec. 2015.

VÁLIO, I.F.M. Auxinas. In: FERRI, M.G. **Fisiologia vegetal**. Vol. 2.2ª Ed. revista e atualizada. São Paulo: EPU, 1986. cap. 2, p. 39-72.

ZHUANG, X. et al. New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation. **Environment international**, v. 33, n. 3, p. 406-413, 2007.

ANEXO A– NORMAS PARA SUBMISSÃO DE TRABALHOS PARA REVISTA CAATINGA

• **Digitação:** o texto deve ser composto em programa Word (DOC ou RTF) ou compatível e os gráficos em programas compatíveis com o Windows, como Excel, e formato de imagens: Figuras (GIF) e Fotos (JPEG). Deve ter no máximo de 20 páginas, A4, digitado em espaço 1,5, fonte Times New Roman, estilo normal, tamanho doze e parágrafo recuado por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm. Páginas e linhas devem ser numeradas; os números de páginas devem ser colocados na margem inferior, à direita e as linhas numeradas de forma contínua. Se forem necessárias outras orientações, entre em contato com o Comitê Editorial ou consulte o último número da Revista Caatinga. As notas devem apresentar até 12 páginas, incluindo tabelas e figuras. As revisões são publicadas a convite da Revista. O manuscrito não deverá ultrapassar 2,0 MB.

• **Estrutura:** o artigo científico deverá ser organizado em título, nome do(s) autor(es), resumo, palavras-chave, título em inglês, abstract, keywords, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos (opcional), e referências. • **Título:** deve ser escrito em maiúsculo, negrito, centralizado na página, no máximo com 15 palavras, não deve ter subtítulo e abreviações. Com a chamada de rodapé numérica, extraída do título, devem constar informações sobre a natureza do trabalho (se extraído de tese/dissertação) e referências às instituições colaboradoras. O nome científico deve ser indicado no título apenas se a espécie for desconhecida. Os títulos das demais seções da estrutura (resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos e referências) deverão ser escritos em letra maiúscula, negrito e justificado à esquerda.

• **Autor (es):** nomes completos (sem abreviaturas), em letra maiúscula, um após o outro, separados por vírgula e centralizados na linha. Como nota de rodapé na primeira página, indicar, para cada autor, afiliação completa (departamento, centro, instituição, cidade, país), endereço completo e e-mail do autor correspondente. Este deve ser indicado por um “*”. Só serão aceitos, no máximo, cinco autores. Caso ultrapasse esse limite, os autores precisam comprovar que a pesquisa foi desenvolvida em regiões diferentes.

Na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé com os endereços deverão ser omitidos. Para a inserção do(s) nome(s) do(s) autor(es) e do(s) endereço(s) na versão final do artigo deve observar o padrão no último número da Revista Caatinga (<http://caatinga.ufersa.edu.br/index.php/sistema>).

- **Resumo e Abstract:** no mínimo 100 e no máximo 250 palavras.

- **Palavras-chave e Keywords:** em negrito, com a primeira letra maiúscula. Devem ter, no mínimo, três e, no máximo, cinco palavras, não constantes no Título/Title e separadas por ponto (consultar modelo de artigo). Obs. Em se tratando de artigo escrito em idioma estrangeiro (Inglês ou Espanhol), o título, resumo e palavras-chave deverão, também, constar em Português, mas com a seqüência alterada, vindo primeiro no idioma estrangeiro.

- **Introdução:** no máximo, 550 palavras, contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa.

- **Citações de autores no texto:** devem ser observadas as normas da ABNT, NBR 10520 de agosto/2002. Ex: Com 1(um) autor, usar Torres (2008) ou (TORRES, 2008); com 2 (dois) autores, usar Torres e Marcos Filho (2002) ou (TORRES; MARCOS FILHO, 2002); com 3 (três) autores, usar França, Del Grossi e Marques (2009) ou (FRANÇA; DEL GROSSI; MARQUES, 2009); com mais de três, usar Torres et al. (2002) ou (TORRES et al., 2002).

Ex: Com 1(um) autor, usar Torres (2008) ou (TORRES, 2008); com 2 (dois) autores, usar Torres e Marcos Filho (2002) ou (TORRES; MARCOS FILHO, 2002); com 3 (três) autores, usar França, Del Grossi e Marques (2009) ou (FRANÇA; DEL GROSSI; MARQUES, 2009); com mais de três, usar Torres et al. (2002) ou (TORRES et al., 2002).

- **Tabelas:** Sempre com orientação em ‘retrato’. Serão numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. Não usar linhas verticais. As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta. Não usar negrito ou letra maiúscula no cabeçalho. Recomenda-se que as tabelas apresentem 8,2 cm de largura, não sendo superior a 17 cm (consulte o modelo de artigo), acessando a página da Revista Caatinga <http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/sistema>.

- **Figuras:** Sempre com orientação em ‘retrato’. Gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de Figura sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte inferior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows”. A resolução deve ter qualidade máxima com pelo menos 300 dpi. As figuras devem apresentar 8,5 cm de largura, não sendo superior a 17 cm. A fonte empregada deve ser a Times New Roman, corpo 10 e não usar negrito na identificação dos eixos. As linhas dos eixos devem apresentar uma espessura de 1,5 mm de cor preta. A Revista Caatinga reserva-se ao direito de não aceitar tabelas e/ou figuras com ORIENTAÇÃO na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após à sua primeira citação.

- **Equações:** devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. As equações devem apresentar o seguinte padrão de tamanho:

Inteiro = 12 pt

Subscrito/sobrescrito = 8 pt

Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt

Subsímbolo = 14 pt

Estas definições são encontradas no editor de equação no Word.

- **Agradecimentos:** logo após as conclusões poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições, indicando, de forma clara, as razões pelas quais os faz.

- **Referências:** devem ser digitadas em espaço 1,5 cm e separadas entre si pelo mesmo espaço (1,5 cm). Precisam ser apresentadas em ordem alfabética de autores, Justificar (Ctrl + J) - NBR 6023 de agosto/2002 da ABNT. UM PERCENTUAL DE 60% DO TOTAL DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS.

O título do periódico não deve ser abreviado e recomenda-se um total de 20 a 30 referências. EVITE CITAR RESUMOS E TRABALHOS APRESENTADOS E PUBLICADOS EM CONGRESSOS E SIMILARES.

REGRAS DE ENTRADA DE AUTOR

Até 3 (três) autores

Mencionam-se todos os nomes, na ordem em que aparecem na publicação, separados por ponto e vírgula. Ex: TORRES, S. B.; PAIVA, E. P. PEDRO, A. R. Teste de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de jiló. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 0, n. 0, p. 00-00, 2010.

Acima de 3 (três) autores

Menciona-se apenas o primeiro nome, acrescentando-se a expressão **et al.**

Ex: BAKKE, I. A. et al. Waterandsodiumchlorideeffectson Mimosa tenuiflora (Willd.) poiretseedgermination. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

Grau de parentesco

HOLANDA NETO, J. P. **Método de enxertia em cajueiro-anão-precoce sob condições de campo em Mossoró-RN**. 1995. 26 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, 1995. COSTA SOBRINHO, João da Silva. **Cultura do melão**. Cuiabá: Prefeitura de Cuiabá, 2005.

MODELOS DE REFERÊNCIAS:

a) Artigos de Periódicos: Elementos essenciais:

AUTOR. Título do artigo. Título do periódico, Local de publicação (cidade), n.º do volume, n.º do fascículo, páginas inicial-final, mês (abreviado), ano.

Ex: BAKKE, I. A. et al. Waterandsodiumchlorideeffectson Mimosa tenuiflora (Willd.) poiretseedgermination. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, set. 2006.

b) Livros ou Folhetos, no todo: Devem ser referenciados da seguinte forma:

AUTOR. Título: subtítulo. Edição. Local (cidade) de publicação: Editora, data. Número de páginas ou volumes. (nome e número da série).

Ex: RESENDE, M. et al. **Pedologia: base para distinção de ambientes**. 2. ed. Viçosa, MG: NEPUT, 1997. 367 p.

OLIVEIRA, A. I.; LEONARDOS, O. H. Geologia do Brasil. 3. ed. Mossoró: ESAM, 1978. 813 p. (Coleção mossoroense, 72).

c) Livros ou Folhetos, em parte (Capítulo de Livro):

AUTOR DO CAPÍTULO. Título do capítulo. In: AUTOR DO LIVRO. Título: subtítulo do livro. Número de edição. Local de publicação (cidade): Editora, data. Indicação de volume, capítulo ou páginas inicial-final da parte.

Ex: BALMER, E.; PEREIRA, O. A. P. Doenças do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. (Ed.). Melhoramento e produção do milho. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 2, cap. 14, p. 595-634.

d) Dissertações e Teses: (somente serão permitidas citações recentes, PUBLICADAS NOS ÚLTIMOS TRÊS ANOS QUE ANTECEDEM A REDAÇÃO DO ARTIGO). Referenciam-se da seguinte maneira:

AUTOR. Título: subtítulo. Ano de apresentação. Número de folhas ou volumes. Categoria (grau e área de concentração) - Instituição, local.

Ex: OLIVEIRA, F. N. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.). 2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia: Área de Concentração em Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2011.

e) Artigos de Anais ou Resumos: (DEVEM SER EVITADOS)

NOME DO CONGRESSO, n.º, ano, local de realização (cidade). Título... subtítulo. Local de publicação (cidade): Editora, data de publicação. Número de páginas ou volumes.

Ex: BALLONI, A. E.; KAGEYAMA, P. Y.; CORRADINI, I. Efeito do tamanho da semente de *Eucalyptus grandis* sobre o vigor das mudas no viveiro e no campo. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 3., 1978, Manaus. Anais... Manaus: UFAM, 1978. p. 41-43.

f) Literatura não publicada, mimeografada, datilografada etc.:

Ex: GURGEL, J. J. S. Relatório anual de pesca e piscicultura do DNOCS. Fortaleza: DNOCS, 1989. 27 p. Datilografado.

g) Literatura cuja autoria é uma ou mais pessoas jurídicas:

Ex: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24 p.

h) Literatura sem autoria expressa:

Ex: NOVAS Técnicas – Revestimento de sementes facilita o plantio. Globo Rural, São Paulo, v. 9, n. 107, p. 7-9, jun. 1994.

i) Documento cartográfico:

Ex: INSTITUTO GEOGRÁFICO E CARTOGRÁFICO (São Paulo, SP). Regiões de governo do Estado de São Paulo. São Paulo, 1994. 1 atlas. Escala 1:2.000.

j) Em meio eletrônico (CD e Internet): Os documentos /informações de acesso exclusivo por computador (online) compõem-se dos seguintes elementos essenciais para sua referência:

AUTOR. Denominação ou título e subtítulo (se houver) do serviço ou produto, indicação de responsabilidade, endereço eletrônico entre os sinais <> precedido da expressão – Disponível em: – e a data de acesso precedida da expressão – Acesso em:.

Ex: BRASIL. Ministério da Agricultura e do abastecimento. SNPC – Lista de Cultivares protegidas. Disponível em: . Acesso em: 08 set. 2008.

GUNCHO, M. R. A educação à distância e a biblioteca universitária. In: SEMINÁRIO DE BIBLIOTECAS UNIVERSITÁRIAS, 10., 1998, Fortaleza. Anais... Fortaleza: Tec Treina, 1998. 1 CD-ROM.

APÊNDICE A: CROQUI DA ÁREA EXPERIMENTAL

BLOCO 1				BLOCO 2				BLOCO 3			
AS 1572 Controle	AG 9030 Controle	AG 9030 <i>A. brasil.</i>	AS 1572 <i>A. brasil.</i>	AG 9030 Controle	AS 1572 <i>A. brasil.</i>	AG 9030 <i>A. brasil.</i>	AS 1572 Controle	AS 1572 Controle	AS 1572 <i>A. brasil.</i>	AG 9030 Controle	AG 9030 <i>A. brasil.</i>
T8 120 kg/ha	T17 60 kg/ha	T13 120 kg/ha	T1 0 kg/ha	T16 0 kg/ha	T5 480 kg/ha	T13 120 kg/ha	T7 60 kg/ha	T8 120 kg/ha	T1 0 kg/ha	T16 0 kg/ha	T14 240 kg/ha
T7 60 kg/ha	T16 0 kg/ha	T15 480 kg/ha	T5 480 kg/ha	T20 480 kg/ha	T4 240 kg/ha	T15 480 kg/ha	T8 120 kg/ha	T6 0 kg/ha	T3 120 kg/ha	T17 60 kg/ha	T13 120 kg/ha
T10 480 kg/ha	T20 480 kg/ha	T11 0 kg/ha	T3 120 kg/ha	T19 240 kg/ha	T1 0 kg/ha	T11 0 kg/ha	T9 240 kg/ha	T9 240 kg/ha	T4 240 kg/ha	T20 480 kg/ha	T11 0 kg/ha
T6 0 kg/ha	T19 240 kg/ha	T14 240 kg/ha	T2 60 kg/ha	T17 60 kg/ha	T2 60 kg/ha	T14 240 kg/ha	T6 0 kg/ha	T7 60 kg/ha	T2 60 kg/ha	T18 120 kg/ha	T12 60 kg/ha
T9 240 kg/ha	T18 120 kg/ha	T12 60 kg/ha	T4 240 kg/ha	T18 120 kg/ha	T3 120 kg/ha	T12 60 kg/ha	T10 480 kg/ha	T10 480 kg/ha	T5 480 kg/ha	T19 240 kg/ha	T15 480 kg/ha