

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS – *CAMPUS* CASCAVEL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**

**DESENVOLVIMENTO E COMPONENTES DE RENDIMENTO DE MILHO INOCULADO
COM *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* E FERTILIZADO COM ÁGUA RESIDUÁRIA DE
SUINOCULTURA E FERTILIZANTE MINERAL**

FÁBIO PALCZEWSKI PACHECO

**CASCAVEL – PARANÁ - BRASIL
2016**

FÁBIO PALCZEWSKI PACHECO

**DESENVOLVIMENTO E COMPONENTES DE RENDIMENTO DE MILHO INOCULADO
COM *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* E FERTILIZADO COM ÁGUA RESIDUÁRIA DE
SUINOCULTURA E FERTILIZANTE MINERAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia Agrícola, área de concentração Sistemas Biológicos e Agroindustriais – SBA.

Orientadora: Dra. Lúcia Helena Pereira Nóbrega

CASCADEL – PARANÁ - BRASIL

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

P119d

Pacheco, Fábio Palczewski

Desenvolvimento e componentes de rendimento de milho inoculado com *Azospirillum brasiliense* e fertilizado com água residuária de suinocultura e fertilizante mineral .Fábio Palczewski Pacheco. Cascavel, 2016.

90 p.

Orientadora: Profª. Drª. Lúcia Helena Pereira Nóbrega
Revisão de Normas, Língua portuguesa, Língua inglesa: Prof. José Carlos da Costa

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2016

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia de Energia na Agricultura

1. Fixação biológica de nitrogênio. 2. Solo – Aplicação de resíduos. 3. *Zea mays* (L.). I. Nóbrega, Lúcia Helena Pereira. II. Costa, José Carlos da, .rev. . III. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. IV. Título.

CDD 21.ed. 631.86

633.15

CIP-NBR 12899

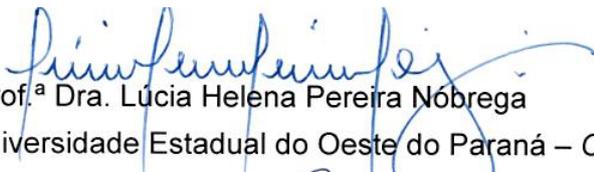
Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9ª/965

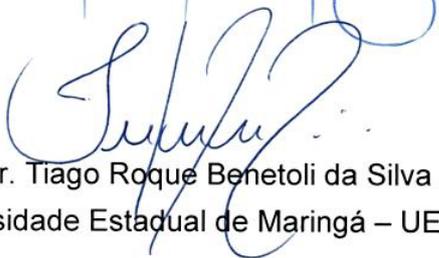
Revisor de Português, Inglês e normas: Prof. Dr. José Carlos da Costa, em 11/05/2016.

FÁBIO PALCZEWSKI PACHECO

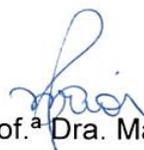
**DESENVOLVIMENTO E COMPONENTES DE RENDIMENTO DE MILHO INOCULADO
COM *Azospirillum brasilense* E FERTILIZADO COM ÁGUA RESIDUÁRIA DE
SUINOCULTURA E FERTILIZANTE MINERAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós - Graduação em Engenharia Agrícola em
cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia
Agrícola, Área de concentração Sistemas Biológicos e Agroindustriais – SBA, aprovado pela
seguinte banca examinadora:


Orientadora: Prof.ª Dra. Lúcia Helena Pereira Nóbrega
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* de Cascavel


Prof. Dr. Tiago Roque Benetoli da Silva
Universidade Estadual de Maringá – UEM - *Campus* de Umuarama


Prof.ª Dra. Clair Aparecida Viecelli
Pontifícia Universidade Católica – PUC/Toledo


Prof.ª Dra. Maritane Prior
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* de Cascavel


Prof. Dr. Jerry Adriani Johann
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* de Cascavel

Cascavel, 16 de fevereiro de 2016.

BIOGRAFIA

Fábio Palczewski Pacheco nasceu na cidade de Cascavel – PR, em 26 de Janeiro de 1986. Em 2004, iniciou o curso de graduação em Engenharia Agrícola na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel – PR, concluído em 2009. Em 2007, foi voluntário de iniciação científica, sob orientação da Professora Lúcia Helena Pereira Nóbrega. Nos anos de 2008 e 2009, continuou como bolsista de iniciação científica, até a conclusão do curso de graduação em 2009. Em 2010, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola - Área de Engenharia de Sistemas Agroindustriais pela Universidade do Oeste do Paraná – UNIOESTE, sendo bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES. Atualmente é aluno de doutorado do PGEAGRI - Unioeste, atuando principalmente nos seguintes temas: qualidade de sementes, armazenamento, nutrição vegetal, água residuária de suinocultura e física do solo.

*Por isso, nem o que planta é alguma coisa,
nem o que rega, mas Deus, que dá o
crescimento.*

*Ora, o que planta e o que rega são um; mas
cada um receberá o seu galardão segundo o
seu trabalho.*

1 Coríntios 3:7-8

"Alô, alô, graças a Deus!"

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo fôlego da vida e Seu amor incondicional, que é sem medida e incomparável.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *campus* de Cascavel, em especial ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola pela oportunidade e suporte para realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão de bolsa de doutorado;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela aprovação e suporte financeiro para a realização do projeto nos Estados Unidos.

Ao *United States Department of Agriculture* – USDA, pelas contribuições para realizar este estudo.

À minha querida orientadora professora Dra. Lúcia Helena Pereira Nóbrega, pela orientação dedicada, competente e muito paciente, além da amizade; que contribui vastamente não só para realização deste trabalho, mas também para o grande estímulo à minha formação pessoal e profissional, sendo exemplo a ser seguido.

Ao meu orientador do exterior Dr. Ardeshir Adeli pela amizade, incentivo, orientação, auxílio e recepção nos Estados Unidos.

Aos meus pais Salete M. P. Pacheco e João A. S. Pacheco e a minha irmã Fabiana C. P. Pacheco, pela compreensão e por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos, amo vocês!

Ao Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR, pela doação das sementes de milho, especialmente aos funcionários José Pola e Gleiner da unidade de Londrina e Marizângela da unidade de Cascavel.

Aos meus grandes e queridos amigos do Laboratório de Avaliação de Sementes e Plantas (LASP), pelo auxílio no experimento em campo, pelas análises em laboratório, conselhos e incentivos: Eduardo Lange Sutil, Ariane Spiassi, Danielle Medina Rosa, Gislaine Picolo de Lima, Márcia Maria Mauli, Michelle Tonini, Joseli V. Ditzel Nunes, Davi Marcondes Rocha, Daiane Bernardi e Simone Morgan Dellagostini, obrigado pela paciência, confiança e companheirismo.

À minha grande amiga, irmã e colega Cláudia Tatiana de Araújo da Cruz-Silva, por me incentivar a me aventurar em terras estrangeiras, ajudar em todos os passos dessa fase da vida e me animar a sempre continuar a evoluir. Com certeza sem o seu impulso e apoio eu não teria chegado tão longe, deixo o meu muito obrigado!

Ao Edison Barbosa da Cunha, técnico do Laboratório de Saneamento Ambiental, pelo grande auxílio nas análises químicas e adsorção atômica.

Aos membros da banca, pela leitura e contribuições à melhoria do trabalho.

Aos meus amigos, que fizeram parte da jornada internacional, sendo um conforto nas horas de saudade de casa: Ana Luiza C.S. Velho, Katai Ratanaporn, Érika B. Menezes, Dafne Alves, Jeremy Winders, Marlon Coan, Ericmar A. dos Santos, Ana Beatriz Oliveira, Rosana Hirai, Alisson Jun, VJ Kanwar, Pedro Motta, Rodrigo Silva, Mídian Musa, Trey Robinson, Felix Ogunola, Cintia Handa e todos os outros que conheci! Amizade sempre!

Enfim, agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, participaram na realização deste trabalho, tão importante para minha formação acadêmica e profissional.

**DESENVOLVIMENTO E COMPONENTES DE RENDIMENTO DE MILHO INOCULADO
COM *Azospirillum brasilense* E FERTILIZADO COM ÁGUA RESIDUÁRIA DE
SUINOCULTURA E FERTILIZANTE MINERAL**

RESUMO GERAL

No intuito de aumentar a produtividade agrícola e a absorção de nutrientes pelas plantas, estão sendo utilizadas bactérias diazotróficas que fixam N do ar atmosférico e favorecem o crescimento vegetal, como inoculante no tratamento de sementes. No entanto, os benefícios do uso dessas bactérias na agricultura dependem de complexas interações, incluindo a natureza do fertilizante utilizado. Os dejetos suínos e seus derivados são utilizados como biofertilizantes para reduzir custos de produção e utilizar o solo como meio de reciclagem deste material. Não foram encontrados estudos que avaliassem a interação entre a fonte de nutrientes utilizada e a inoculação com bactérias diazotróficas no cultivo do milho. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do inóculo de *Azospirillum brasilense*, associado ao uso da água residuária de suinocultura e aplicado como biofertilizante, sobre o desenvolvimento inicial, componentes de rendimento e qualidade de sementes de milho, nos anos de 2013/2014 e 2014/2015. Três taxas de aplicação de biofertilizante foram utilizadas (correspondentes às doses de 0; 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, respectivamente) e a fertilização mineral seguindo as mesmas doses, com e sem inóculo, totalizando dez tratamentos, com quatro repetições cada. Em casa de vegetação, observou-se que a inoculação com *Azospirillum brasilense* promoveu redução do tempo de germinação, aumento da velocidade de emergência, crescimento das raízes laterais e encurtamento das raízes principais das plântulas de milho. Em campo, observou-se que a interação entre o biofertilizante e *A. brasilense* aumentou os componentes de rendimento, produtividade e foi benéfica para a germinação e o vigor das sementes de milho produzidas. Os resultados mais expressivos foram obtidos com a dose de 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, tanto para o fertilizante mineral quanto para o biofertilizante de suinocultura, nas duas safras estudadas. Assim, o uso de biofertilizante de suinocultura associado ao uso de *A. brasilense* se apresenta como alternativa para redução dos custos de produção de milho em relação à adubação nitrogenada.

Palavras-chave: fixação biológica de nitrogênio, aplicação de resíduos no solo, *Zea mays* L.

DEVELOPMENT AND YIELD COMPONENTS OF CORN INOCULATED WITH *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* AND SWINE WASTEWATER AS BIOFERTILIZER

ABSTRACT

In order to increase agricultural yield and nutrient uptake by plants, diazotrophs as fixing N bacteria from atmospheric air have been used as inoculum for seed treatment since they also promote plant growth. However, the beneficial uses of diazotrophs in agriculture rely on complex interactions, including the sort of fertilizer used. Swine wastewater has been used as biofertilizer to reduce production costs and to be applied on soil in order to recycle nutrients. There are not studies which evaluate the interaction between nutrient source and diazotrophs inoculation concerning maize cropping. In this context, the aim of this study was to evaluate the effects of inoculum *Azospirillum brasilense* associated with swine wastewater applied as biofertilizer on the initial development, yield components and corn seeds quality in 2013/2014 and 2014/2015 cropping years. Three bio-fertilizer application rates were used (corresponding to 0, 30 and 60 kg ha⁻¹ nitrogen doses, respectively) and mineral fertilization at the same doses, with and without inoculum, totaling ten treatments, with four replications each. In the greenhouse, it was observed that there was a decrease when *Azospirillum brasilense* was inoculated at germination term, but an increase on emergence speed, lateral root growth and some shortening of main roots in maize seedlings. In the field, it was observed that the interaction between the biofertilizer and *A. brasilense* increased yield components, productivity, and it was beneficial to seed germination and vigor of the produced maize seeds. The most significant results were shown at 60 kg ha⁻¹ nitrogen dose for both mineral fertilizer and swine wastewater, in both studied seasons. Thus, the use of biofertilizers from swine wastewater associated with *A. brasilense* use was an alternative to reduce corn production costs in relation to nitrogen fertilization.

Keywords: biological nitrogen fixation, sustainability, *Zea mays* L.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	x
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo geral.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 Aspectos da produção e crescimento do milho.....	4
3.2 Adubação do milho.....	5
3.3 Bactérias diazotróficas.....	7
3.4 Sementes e o desenvolvimento inicial.....	10
3.5 Produção e uso agrícola da água residuária de suinocultura.....	12
REFERÊNCIAS.....	16
ARTIGO 1: DESENVOLVIMENTO INICIAL DE MILHO INOCULADO COM <i>AZOSPIRILLUM</i> <i>BRASILENSE</i> E FERTILIZADO COM ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA E FERTILIZANTE MINERAL.....	25
1 INTRODUÇÃO.....	27
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
2.1 Caracterização do experimento.....	28
2.2 Índice de velocidade de emergência e velocidade de emergência.....	30
2.3 Comprimento de plântulas e massa seca.....	31
2.4 Delineamento experimental.....	31
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4 CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS.....	36
ARTIGO 2 - COMPONENTES DE RENDIMENTO DE MILHO INOCULADO COM <i>AZOSPIRILLUM</i> <i>BRASILENSE</i> E FERTILIZADO COM ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA.....	40
1 INTRODUÇÃO.....	42
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	44

2.1	Caracterização do experimento.....	44
2.2	Inoculação e aplicação dos tratamentos.....	46
2.3	Determinação dos componentes de rendimento.....	47
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS	56
	ARTIGO 3 - QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO EM RESPOSTA À BIOFERTILIZAÇÃO COM ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA E À INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS	61
	PAPER 3: CORN SEEDS QUALITY IN RESPONSE TO SWINE WASTEWATER AND INOCULATION WITH DIAZOTROPHIC BACTERIA	62
1	INTRODUÇÃO	63
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	64
2.1	Caracterização da área experimental	64
2.2	Inoculação e aplicação dos tratamentos.....	66
2.3	Produtividade e testes de qualidade de sementes.....	67
2.4	Delineamento estatístico	68
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
4	CONCLUSÕES	75
	REFERÊNCIAS	75
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	80

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1	Caracterização química do solo e da água residuária de suinocultura utilizados no experimento	29
Tabela 2	Índice de velocidade de germinação e índice de velocidade de emergência de milho com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i>	32
Tabela 3	Comprimento da parte aérea e raiz de plantas de milho produzidas com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> aos quinze dias após a semeadura	34
Tabela 4	Massa seca da parte aérea e raiz de plantas de milho produzidas a com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> aos quinze dias após a semeadura	35

ARTIGO 2

Tabela 1	Características físico-químicas da água residuária de suinocultura, obtidas antes de cada aplicação, em janeiro e novembro de 2014	47
Tabela 2	População inicial e final de plantas de milho de segunda safra (plantas m ⁻¹) produzidas com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> ..	49
Tabela 3	Índice de clorofila (SPAD) das folhas de milho com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS) ou fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em dois anos de observação	50
Tabela 4	Número de espigas de milho (espigas m ⁻¹) produzidas com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em dois anos de observação	51
Tabela 5	Número de grãos por espiga de milho com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS) ou fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em dois anos de observação	52

Tabela 6	Massa (g) da ráquis de milho com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS) ou fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em dois anos consecutivos	53
Tabela 7	Comprimento de espiga (cm) de milho produzida com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral, sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em dois anos de observação.....	53
Tabela 8	Eficiência agrônômica de uso do nitrogênio pelas plantas de milho em razão da biofertilização com água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em dois anos de observação.....	54

ARTIGO 3

Tabela 1	Características físico-químicas da água residuária de suinocultura, obtidas em cada aplicação em janeiro e novembro de 2014.....	66
Tabela 2	Teor de água (%) de sementes de milho com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral, sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em dois anos consecutivos	68
Tabela 3	Massa de cem sementes de milho (g) produzidas com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral, sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em dois anos consecutivos	69
Tabela 4	Germinação (%) de sementes de milho com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral, sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em dois anos consecutivos	70
Tabela 5	Vigor (%) determinado pelo teste de envelhecimento acelerado de sementes de milho produzidas com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral, sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em dois anos consecutivos.....	71
Tabela 6	Vigor (%) determinado pelo teste de frio, de sementes de milho produzidas com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral, sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em dois anos consecutivos	72
Tabela 7	Produtividade de milho ($Mg\ ha^{-1}$) com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em dois anos consecutivos	73

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é o grão mais cultivado no mundo e o segundo com maior volume em produção agrícola. Como alimento, ele é extensamente consumido e apresenta aumento na taxa de consumo de 0,9% ao ano. Essa taxa será aumentada pela demanda para a produção de biocombustível, nos EUA, de 150 milhões de toneladas de milho para a produção de etanol. A produção de milho, ainda, tem impacto direto na produção de aves, suínos e bovinos (USDA, 2016).

Investimentos no aumento da eficiência das plantas de milho no uso da água e de nutrientes por meio da engenharia genética representam importantes contribuições ao abastecimento mundial de milho. Por isso, investimentos em tecnologias de nutrição das plantas, a exemplo da melhoria na eficiência dos fertilizantes nitrogenados e do uso de resíduos agrícolas, industriais e urbanos, serão decisivos à produção de milho no futuro (CONTINI; TALAMINI; VIEIRA, 2013).

A determinação das necessidades nutricionais de qualquer planta é dada pela quantidade de nutrientes que esta extrai durante seu ciclo, dependendo do rendimento obtido e da concentração de nutrientes nos grãos e na matéria seca. O milho é uma das culturas mais exigentes em fertilizantes, especialmente os nitrogenados. Tanto na produção de sementes, como na silagem, é necessário aplicar quantidades suficientes de nutrientes para que fiquem disponíveis às plantas. O suprimento inadequado de nitrogênio é considerado um dos principais fatores limitantes ao rendimento de grãos, pois exerce importante função nos processos bioquímicos da planta, influenciando o crescimento mais do que qualquer outro nutriente (RAMBO *et al.*, 2011).

Com a finalidade de auxiliar a demanda das plantas por nitrogênio, as bactérias diazotróficas estão sendo utilizadas na agricultura. Elas são microrganismos que fazem a fixação do nitrogênio gasoso presente no ar atmosférico, através de uma enzima, denominada dinitrogenase, que é capaz de romper a tripla ligação do N_2 e reduzi-lo a amônia. Tais bactérias se associam a diversas espécies de plantas, dentre elas o milho. No entanto, somente com a inoculação com bactérias diazotróficas, não é possível assegurar e suprir totalmente a demanda das plantas por nutrientes, necessitando assim, de suplementação conjunta com outras fontes de fertilizantes (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

O uso de água residuária de suinocultura (ARS) no solo é outra forma de disponibilizar nutrientes para as plantas. A ARS é um resíduo agroindustrial abundante, seu

emprego reduz o uso de fertilizantes minerais, adquiridos com alto custo, é rica em nutrientes e matéria orgânica, necessários para o desenvolvimento das plantas. Entretanto, para que essa prática seja feita de maneira correta, vários fatores devem ser considerados, como a composição do resíduo, tipo de solo, clima, manejo, histórico da área, necessidades da cultura, local de aplicação (foliar ou solo) e época de aplicação do resíduo.

Nesse contexto, a utilização do inóculo com bactérias diazotróficas no milho para atender à necessidade parcial do nitrogênio, somada à fertilização com água residuária de suinocultura, podem suprir a demanda do milho por nutrientes e melhorar o desenvolvimento da planta e, conseqüentemente, o potencial produtivo. Assim, pesquisas sobre o assunto se fazem necessárias, para que boas práticas de manejo possam ser recomendadas.

Visando dar suporte ao assunto e gerar informações que possam auxiliar outras pesquisas, este trabalho foi dividido em três artigos. O primeiro se refere ao desenvolvimento inicial das plântulas de milho com fertilização inicial de fonte mineral e água residuária de suinocultura, realizado em casa de vegetação. O segundo artigo se refere ao experimento em campo, com avaliação dos componentes de rendimento das plantas de milho inoculadas com *Azospirillum brasilense* e utilizadas as mesmas doses e fontes de nitrogênio do primeiro experimento. O terceiro artigo se refere à produtividade e qualidade das sementes produzidas na mesma condição do experimento anterior.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do inóculo de *Azospirillum brasilense* associado ao uso da água residuária de suinocultura, aplicada como biofertilizante, sobre o desenvolvimento inicial, componentes de rendimento e qualidade de sementes de milho, em dois anos consecutivos.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o desenvolvimento inicial de milho variedade, com inoculação de *Azospirillum brasilense* e aplicação de taxas de água residuária de suinocultura, tratada em biodigestor e lagoa de sedimentação.

- Avaliar a emergência, crescimento da raiz e parte aérea, formação de biomassa de milho sob biofertilização com água residuária de suinocultura e fertilização mineral associadas com *Azospirillum brasilense* em casa de vegetação;

- Verificar durante o desenvolvimento vegetal, alterações nos componentes de rendimento, índice de clorofila em função da inoculação de *Azospirillum brasilense* e aplicação de biofertilizante de água residuária de suinocultura e fertilização mineral no solo nas mesmas dosagens de N, do milho cultivado no campo;

- Avaliar a germinação, vigor, grau de umidade e nutrientes das sementes produzidas sob fertilização com água residuária de suinocultura associada com *Azospirillum brasilense*.

- Comparar e determinar a melhor taxa de aplicação de água residuária associada com *Azospirillum brasilense* para o desenvolvimento do milho.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Aspectos da produção e crescimento do milho

O milho desempenha papel fundamental na agricultura brasileira, tanto do ponto de vista econômico, em função da extensa cadeia produtiva e por ser *commodity* em acesso no mercado internacional, como do ponto de vista agrônomo, compondo o sistema de rotação de cultura (BONO *et al.*, 2008).

O Brasil é o terceiro país em área plantada de milho; iniciou as atividades de exportação em 2001, ano que exportou aproximadamente seis milhões de toneladas, localizando-se entre os quatro maiores exportadores mundiais. Em 2012, as exportações de milho geraram receita da ordem de US\$ 5,4 bilhões; em 2013, a receita foi US\$ 6,3 bilhões e, em 2014, de US\$ 3,9 bilhões. A área ocupada pelo cultivo de milho no Brasil oscila ano a ano, mantendo-se entre 12 a 13 milhões de hectares. A média de produtividade ainda é baixa, em torno de 3500 kg ha⁻¹ (BARROS; ALVES, 2015).

No Paraná, o sudoeste é a terceira região produtora estadual de milho, respondendo por mais de 9% da produção estadual total, no ano de 2008, e mais de 14% da produção na primeira safra, nesse mesmo ano (IBGE, 2012). Na safra 2014/2015, o Paraná foi o segundo maior produtor de milho com 15,9 milhões de toneladas (SOLOGUREN, 2015). Ainda, há que se considerar que, dos 711.317 ton. de milho em grãos produzidos nessa região, no ano de 2006, mais de 75% foram produzidos pela agricultura familiar (500.370 ton.) (MARTIN *et al.*, 2011).

O milho é uma planta de ciclo vegetativo muito variável, sendo que no Brasil, a cultura apresenta ciclo entre 110 e 180 dias, variando em função da caracterização do material genético (superprecoce, precoce e ciclo normal) (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000). Segundo os mesmos autores, a cultura compreende os seguintes estádios de desenvolvimento:

(i) Da semente à emergência, período que vai desde a semente até o aparecimento efetivo da plântula (duas folhas completamente desenvolvidas), o que pode ocorrer de cinco a doze dias de duração, dependendo da temperatura e umidade do substrato;

(ii) Fase vegetativa, período entre a emissão da segunda folha e o início do florescimento, período que varia em função do híbrido escolhido;

(iii) Fase reprodutiva, período entre o início da polinização e o ponto de maturidade fisiológica, em que ocorre o enchimento completo dos grãos, tem duração entre cinquenta e oitenta dias;

(iv) O ponto de maturidade fisiológica é determinado pelo aparecimento da camada negra no ponto de inserção do grão com o ráquis. Esse é um indicativo do final do ciclo de vida da planta.

3.2 Adubação do milho

Um dos insumos mais utilizados no sistema convencional é o fertilizante químico, derivado do petróleo, que gera, por causa de seus preços, grande evasão de recursos financeiros da propriedade rural. Assim, grande parte dos agricultores utiliza quantidades de fertilizantes aquém das necessidades nutricionais do milho. Portanto, devem ser buscadas fontes alternativas de adubos destinados ao cultivo de milho, principalmente adubos orgânicos, promovendo a recuperação e conservação do solo, melhorando as condições socioeconômicas do produtor e, também, promovendo a sustentabilidade da propriedade. A adubação orgânica é base da agricultura orgânica capaz de mantê-la produtiva, sustentável e lucrativa, sendo uma das alternativas a água residuária de suinocultura como biofertilizante (LOPES *et al.*, 2004).

Dentre os nutrientes necessários para o pleno desenvolvimento do milho, o fósforo propicia maior massa seca da parte aérea de plântulas de milho em relação ao potássio (BEVILAQUA; BROCH; POSSENTI, 1996). O fósforo é um importante macronutriente, componente estrutural de macromoléculas, como ácidos nucleicos e fosfolípidos e, também, da adenosina trifosfato (ATP), sendo elemento chave de várias vias metabólicas e reações bioquímicas. Embora a quantidade total de fósforo no solo possa ser relativamente alta, na maioria das vezes este não se encontra em sua forma lábil ou ao alcance da rizosfera (TIRITAN *et al.*, 2010).

A fonte mineral utilizada afeta o teor de nitrogênio (N), potássio (K) e enxofre (S) na folha do milho, mas não interfere nos componentes da produção e na produtividade. A aplicação de N na forma de Entec 26 (inibidor de nitrificação) proporciona maiores teores de N, K e S na folha do milho, em relação à ureia. A aplicação de N, em cobertura, aumenta o número de espigas por planta, o número de grãos por espiga e a produtividade de grãos da cultura do milho cultivada sob sistema plantio direto, em solo arenoso (SORATTO *et al.*, 2011).

Em seus estudos, Santos *et al.* (2010) relataram que, quando o fertilizante é aplicado em pré-semeadura, com quinze dias de antecedência, a recuperação média de nitrogênio na planta, proveniente do fertilizante, é de apenas 6 %.

Em estudos realizados por Silva *et al.* (2009), a aplicação de nitrogênio em cobertura não interferiu no crescimento e produtividade da cultura do milho safrinha e a adubação com zinco, via foliar, aumentou a altura de plantas, altura de inserção da espiga e diâmetro do colmo, contudo, não ocorreu aumento na produtividade da cultura.

Evans, Gmur e Costa (1977) estudaram o cultivo do milho submetido à aplicação de esterco líquido de suíno na dosagem de 636 t ha^{-1} (massa fresca). Por dois anos sucessivos, observaram que a produção média de grãos foi $7,10 \text{ t ha}^{-1}$, enquanto que para os tratamentos fertilizados com adubação mineral este valor foi $6,88 \text{ t ha}^{-1}$. A composição química de N, P, K, Ca e Mg nas folhas foi, em média, 3,39; 0,39; 2,51; 0,72 e 0,32% da massa seca nos tratamentos com esterco e 2,88; 0,31; 1,93; 0,72 e 0,55% de massa seca com a adubação mineral, respectivamente.

Freitas *et al.* (2005) avaliaram o efeito de aplicação de quatro lâminas de água residuária de suinocultura (água de lagoa, bruta e peneirada), sobre a produção da cultura do milho para silagem. Constataram que o uso das águas residuárias aumentou em, aproximadamente, 58% a produtividade em relação à testemunha, altura de plantas, índice de espigas, altura e massa das espigas.

Estudos realizados por Melo, Corá e Cardoso (2011), com fertilização nitrogenada, densidade de plantas e rendimento de milho cultivado no sistema plantio direto, mostraram que os componentes de produção, número e massa de grãos por espiga e massa de grãos por planta aumentaram com o acréscimo da dose de N e com o decréscimo da densidade de plantas. Os maiores rendimentos de grãos foram obtidos com acréscimos concomitantemente nas doses de N e nas densidades de plantas. O máximo rendimento de grãos de milho foi obtido com 120 kg ha^{-1} de N e densidade de $83.000 \text{ plantas ha}^{-1}$, apresentado no mesmo estudo. Calonego *et al.* (2011) relataram como densidade ideal para aumento de produtividade $75.000 \text{ plantas ha}^{-1}$.

A aplicação de dejetos de suínos (não tratado, resultante de lagoa de estabilização por 120 dias ou como efluente de biodigestor) promoveu aumento na produção de biomassa seca e na concentração de nutrientes no milho, menos para o cálcio (FEY *et al.*, 2010).

Quando o milho é fertilizado com dejetos suíno, adicionado com adubação mineral de fósforo e potássio, excede à necessidade da cultura e ocorre a acumulação no solo (CELA *et al.*, 2010).

Prior *et al.* (2013) avaliaram o efeito da água residuária de suinocultura no solo e milho e também encontraram valores para N abaixo do nível considerado ideal para o

desenvolvimento da cultura, atingindo, em média, 15,02 g kg⁻¹; para K obtiveram teores em média de 20,80 g kg⁻¹.

Fernandes *et al.* (2008), estudando doses de dejetos bovinos diluídos (10, 20, 30 e 40%), observaram aumento no comprimento do caule do milho, número de folhas, massa seca da parte aérea e sistema radicular, massa seca total, relação da massa seca da parte aérea/raiz, altura total da plântula, massa fresca da parte aérea e do sistema radicular até a dose de 30%. Acima dessa percentagem, houve redução nos valores das variáveis analisadas.

Costa *et al.* (2009) avaliaram os componentes de produção do milho irrigado com lodo de esgoto e verificaram efeito residual dos biossólidos apenas na altura de plantas, enquanto a irrigação com água residuária apresentou efeito residual em todos os parâmetros de crescimento estudados (altura, área foliar e diâmetro do caule), com valores superiores aos dos tratamentos utilizando água de abastecimento e fertilização mineral. Costa *et al.* (2011) encontraram maior absorção de N, quando utilizada adubação mineral, e maior produtividade de milho, em comparação com as adubações orgânica e organomineral com dejetos de suínos.

O rendimento de grãos de milho apresenta três componentes essenciais: número de espigas por planta, número de grãos por espiga e massa de grãos. A definição destes componentes é determinada pelas condições de desenvolvimento da planta de milho em cada estágio de diferenciação. A avaliação dos componentes do rendimento de grãos de milho permite obter um indicativo da disponibilidade de N, durante o seu ciclo de desenvolvimento (BEYRANVAND *et al.*, 2013).

3.3 Bactérias diazotróficas

As bactérias diazotróficas correspondem a um grupo de microrganismos benéficos às plantas, devido à capacidade de colonizar a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas (KLOEPPER *et al.*, 1989).

Com o intuito de aumentar a eficiência na utilização de fertilizantes nos sistemas agrícolas, mantendo o equilíbrio ecológico, aumentou recentemente, o interesse pela manipulação de rizobactérias promotoras do crescimento de planta (RPCPs), as quais apresentam grande potencialidade e praticabilidade de uso. Essas bactérias exercem efeitos benéficos ao promoverem o crescimento vegetal, cuja ocorrência se deve ao aumento da disponibilidade de nutrientes para as plantas, seja pela solubilização de fosfato inorgânico

(RODRÍGUEZ; FRAGA, 1999) ou pelo maior crescimento das raízes, favorecendo a absorção de água e nutrientes (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

As bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* são organismos fixadores de nitrogênio, os quais podem viver em associação com a rizosfera das plantas, podendo alojar-se dentro dos tecidos das raízes. O principal efeito do *Azospirillum* parece estar no aumento do crescimento radicular que, em condições favoráveis, beneficia a absorção de nutrientes e água, conseqüentemente, influencia na produtividade (LIN *et al.*, 1983).

Tais organismos apresentam potencial como biofertilizante, contribuem para o desenvolvimento das plantas por meio da fixação biológica do nitrogênio e produção de substâncias reguladoras do crescimento vegetal (BASHAN *et al.*, 2006).

O uso de *Azospirillum* spp. tem sido atribuído, principalmente, ao efeito geral no crescimento das raízes e conseqüente melhora na capacidade de assimilação de nutrientes pela planta. A teoria mais aceita é de que o efeito benéfico da associação com *Azospirillum* ocorra devido à soma de múltiplos mecanismos. As bactérias do gênero *Azospirillum* podem produzir vários fitormônios (tais como giberilinas, ácido indolacético e etileno) e fixam nitrogênio em associação com plantas. Por apresentarem metabolismo de nitrogênio são muito versáteis, podendo ser utilizadas como fonte de nitrogênio: amônio, nitrato, nitrito, aminoácidos e nitrogênio atmosférico. Porém, a transferência de nitrogênio fixado para a planta associada parece ser limitada e nem sempre é detectada. As fontes de carbono preferencialmente utilizadas por *Azospirillum* spp. são ácidos orgânicos como malato, lactato, succinato e piruvato. (HUERGO, 2006).

A aplicação de bactérias promove o crescimento das plantas. Na agricultura, dependerá, em grande parte, de interações complexas entre vários fatores, incluindo a natureza dos fertilizantes selecionados (LAI *et al.*, 2008).

A inoculação com *Azospirillum* é feita com a aplicação do produto sólido (como turfa) ou líquido, nas sementes. Por se tratar de um processo que envolve organismos vivos, é necessário respeitar as temperaturas adequadas (entre 15 e 35° C) e evitar a exposição ao sol. Também não se deve realizar a inoculação juntamente com a aplicação de agrotóxicos (ROBERTO; SILVA; LOBATO, 2010).

O crescimento e o aumento nos componentes de produção, promovido pelas bactérias, já foi verificado nas culturas de milho (COUILLEROT *et al.*, 2010; MEHNAZ *et al.*, 2010), gengibre (DASH *et al.*, 2008), soja (COTE *et al.*, 2010), arroz (IKEDA *et al.*, 2010), trigo (ZORITA; CANIGIA, 2009), tomate (FAVERO *et al.*, 2008), girassol (AKBARI *et al.*, 2011), alface (LAI *et al.*, 2008), cevada (ZAWOZNIK *et al.*, 2011), aveia (SANTA *et al.*, 2008), feijão (SANNATHIMMAPPA *et al.*, 2011) e gergelim (SHAKERI *et al.*, 2016).

Lai *et al.* (2008) testaram, em casa de vegetação, a interação entre *Azospirillum rugosum*, dejetos suínos (doses de 0, 25, 45 e 50 kg de N ha⁻¹) e fertilizantes químicos, em alface. Os autores observaram maior crescimento da planta, aumento na produção de massa e acumulação de nutrientes conforme aumentaram a dose de dejetos. Nos tratamentos em que adicionaram esterco suíno, o rendimento da produção e a absorção de nutrientes foram potencializados. Destacaram, ainda, que o uso de bactérias diazotróficas é benéfico e a interação: fertilizante x bactéria deve ser mais estudada.

Em experimento realizado com girassol, no Irã, foi observado que a utilização de bactérias diazotróficas associadas a taxas de nitrogênio (50% de inoculação + 50% recomendação de N) aumentaram os teores de óleo e ácido linoleico em 53,3%, proteína bruta em 16%, produção de 9918 kg ha⁻¹ e melhor qualidade tecnológica das sementes de girassol (AKBARI *et al.*, 2011).

A inoculação de *Azospirillum sp.* em trigo aumentou a produção de grãos em 29% e os grãos continham cerca de 23% a mais de nitrogênio, 60% de fósforo e 34% de potássio, quando comparados ao controle (ASKARY *et al.*, 2009).

Tratamentos com o inóculo de *Azospirillum sp.* aumentaram a tolerância da cevada ao estresse salino, nitrato e amônia, prevenindo assim, efeitos tóxicos da acumulação de nitrato na célula vegetal. As plantas em que se utilizou *Azospirillum* apresentaram maiores teores de sacarose e menores teores de frutose (BAGHERI, 2011). Resultados semelhantes foram observados para o milho por Salazar *et al.* (2009).

Em estudos realizados com milho, por Biari, Gholami e Rahmani (2008), os tratamentos com *Azospirillum* apresentaram aumento na altura, massa seca da parte aérea, das sementes e espiga, número de sementes por fileira, comprimento da espiga, aumento nos teores de N, P, K, Fe, Zn, Mg e Cu, indicando que o uso do inoculante tem potencial de aumento na produtividade, desenvolvimento e nutrientes em milho.

O *Azospirillum* apresenta capacidade de promover a germinação das sementes, formação de nódulos e desenvolvimento inicial de milho e soja, estimulando o crescimento pela excreção de ácido indol-acético, giberelinas e zearaleras no meio da cultura, em concentração suficiente para produzir alterações morfológicas e fisiológicas em tecidos de sementes pequenas (CASSÁN *et al.*, 2009).

Ao avaliar duas linhagens de *Azospirillum*, Cote *et al.* (2010) encontraram dois aspectos julgados relevantes relacionados com *A. lipoferum*: produz quantidades elevadas de citocininas e promove o crescimento das plantas. Assim, o *A. lipoferum* é útil para aumentar a absorção de N em solos deficientes, pela produção de citocininas e da promoção da atividade da enzima ACC deaminase, que favorece a expansão da folha e maior teor de N na folha, sendo vantajoso para cultura do tomate.

Em experimento realizado com feijão, foi relatada maior absorção de nitrogênio (139 kg ha^{-1}), fósforo (58 kg ha^{-1}) e potássio (131 kg ha^{-1}). Os tratamentos utilizados foram interações entre doses de 75 kg ha^{-1} N por meio de fertilizantes inorgânicos, 25 kg ha^{-1} N de composto orgânico e *Azospirillum*. Após a colheita do feijão, observou-se que o uso de composto+*Azospirillum* apresentou maior eficiência de uso de fertilizantes, levando à maior absorção de nutrientes e maiores rendimentos de grãos e palha de milho ($4,689 \text{ kg ha}^{-1}$ e $6,68 \text{ kg ha}^{-1}$, respectivamente). Maiores teores de potássio no solo após o manejo ($12,48 \text{ kg ha}^{-1}$) foram observados, conforme se aumentou a proporção de fontes orgânicas na dosagem do tratamento (SANNATHIMMAPPA *et al.*, 2011).

Os efeitos da inoculação com *Azospirillum* em milho promovem aumento geral na absorção de macro e micronutrientes e não especificamente a fixação biológica de nitrogênio. Quando se aplica uma taxa inicial baixa de nitrogênio (24 kg ha^{-1}), o rendimento pode ser considerado baixo (por exemplo, no Chile, $18.000 \text{ kg ha}^{-1}$), entretanto, foram compatíveis com a média de rendimentos do Brasil (3.972 kg ha^{-1}) (HUNGRIA *et al.*, 2010).

Dentre os efeitos da inoculação, ocorre a formação de 87 proteínas na raiz do milho, sendo elas diferentes das do milho não inoculado. Dentre as 87 proteínas encontradas, foram identificadas seis proteínas com função de aumentar a capacidade simbiótica da planta, aumentando em duas vezes a quantidade de proteína bruta na raiz do milho (CANGAHUALA-INOCENTE *et al.*, 2013).

Segundo Lai *et al.* (2008), determinar o melhor ajuste entre as bactérias inoculadas, diferentes fertilizantes e seus efeitos sobre a resposta da planta é importante para avaliar a eficiência das bactérias diazotróficas e recomendar sua utilização mais viável.

Coullerot *et al.* (2013) estudaram a associação de *Azospirillum* com *Pseudomonas* no cultivo do milho. Os autores observaram a ocorrência de estimulação do crescimento inicial do milho nos tratamentos em que a estirpe *Azospirillum* foi utilizada.

3.4 Sementes e o desenvolvimento inicial

Embora as plantas de milho sigam o mesmo padrão de desenvolvimento, vários fatores, como a variedade utilizada, solo, adubação, clima, práticas culturais, pragas, doenças, ano agrícola e época de plantio, são capazes de interferir nos estádios fenológicos, no número total de folhas desenvolvidas, na produtividade e na qualidade de sementes de milho (OKUMURA: MARIANO; ZACCHEO, 2011).

Sementes de melhor qualidade apresentam desempenho superior em todos os aspectos do cultivo (ANDREOLI *et al.*, 2002). Dentre esses, pode-se citar a uniformidade da

população, maior vigor de plântulas e plantas, menor índice de patógenos oriundos de sementes e, conseqüentemente, maior produtividade (DIAS; MONDO; CÍCERO, 2010). Portanto, avaliações que permitam a obtenção de informações seguras sobre o potencial fisiológico das sementes são de importância fundamental para as decisões a serem tomadas durante o processo produtivo e de comercialização das mesmas (BITTENCOURT *et al.*, 2012).

O vigor das sementes exerce efeitos diretos no crescimento inicial de plantas de milho, o que reflete na habilidade competitiva da cultura com plantas invasoras, as quais têm menor crescimento. Além disso, quando em competição maximizada por recursos, o vigor das sementes influencia diretamente na produtividade de grãos e sementes (DIAS; MONDO; CÍCERO, 2010). As informações fornecidas apenas pelo teste de germinação são consideradas insuficientes para, isoladamente, estimar o potencial de desempenho das sementes em condições de campo (OHLSON *et al.*, 2010).

A análise de sementes é ferramenta importante no controle de qualidade, principalmente, a partir do final do período de maturação, quando as sementes atingem a maturidade fisiológica. Portanto, a seleção de testes de vigor deve atender a objetivos específicos, sendo importante a identificação das características avaliadas pelo teste e sua relação com o comportamento das sementes diante de situações específicas como, por exemplo, o desempenho após a secagem, o potencial de armazenamento, a resposta a injúrias mecânicas e as condições climáticas (BAALBAKI *et al.*, 2009).

Dentre os testes avaliados (primeira contagem, precocidade de emissão de raiz primária, teste de frio, condutividade elétrica e envelhecimento acelerado), a condutividade elétrica (6, 8 e 24 horas) foi o único eficiente na diferenciação do vigor de lotes de sementes de milho-doce (COIMBRA *et al.*, 2009).

As sementes podem sofrer prejuízos e terem a germinação inibida quando o fertilizante fica muito próximo, sendo ideal que o fertilizante fique entre 4,5 a 6,0 cm de distância da semente, ao lado ou abaixo. O efeito que o fertilizante acarretaria sobre a semente, traduz-se mais intensamente sobre o sistema radicular das plântulas e o efeito é dependente da dose e posição do fertilizante no solo. O fertilizante potássico apresentou efeito mais prejudicial às plântulas de milho, principalmente quando a posição é mais próxima da semente, em estudos realizados por Bevilaqua, Broch e Possenti (1996).

A presença de sais na germinação prejudica a absorção de água pela semente de cevada e, conseqüentemente, impede o início do processo germinativo (UHVITS, 1946). Como a água residuária de suinocultura é rica em sais de sódio, fósforo e alumínio, este é um efeito que deve ser levado em consideração, quando aplicada logo após a semeadura.

Outras fontes de nutrientes podem também trazer benefícios ao desenvolvimento das plantas. Por exemplo, no desenvolvimento inicial do milho submetido a teores de esterco bovino, observou-se que houve resposta positiva quanto às doses crescentes aplicadas de biofertilizante de esterco. Reina *et al.* (2010) afirmaram que o aumento das doses de esterco bovino tende a aumentar a produtividade de espigas e de grãos, quando comparada com a testemunha. Em função disso, é que a utilização de biofertilizante é recomendada tanto para agricultores familiares como para grandes produtores, desde que, tenha disponibilidade de esterco e mão de obra para sua aplicação. É interessante observar que, o ideal é promover o uso equilibrado do fertilizante orgânico, que será específico para cada situação e para cada cultura. Pois, é indiscutível que, doses muito elevadas, dependendo da condição do ambiente em questão, podem favorecer à redução nas características avaliadas, pois isso acarreta diminuição no suprimento de oxigênio, estresse hídrico, e presença de quantidades tóxicas de amônia, de nitrito e de sais, principalmente os de potássio (MOHAMMADI *et al.*, 2012).

Em experimentos realizados por Tonini *et al.* (2008), em que avaliaram a qualidade de sementes e de plantas de soja irrigada com água residuária de suinocultura, verificou-se que a água residuária reduziu a germinação e o vigor das sementes colhidas. A redução foi tanto maior quanto maior a taxa de ARS aplicada.

A aplicação de ureia, concomitante com a semeadura do milho pode trazer prejuízos à germinação, como observado por Sangoi *et al.* (2009). Assim, a execução de experimentos em vasos, muitas vezes encontra dúvidas quanto à forma de calcular as doses utilizadas, que podem ser obtidas considerando-se o volume do solo, a área de solo exposta, o número de plantas, dentre outros. O possível estresse gerado sobre as plantas, devido à dose de fertilizante utilizado, pode comprometer a resposta do experimento.

De acordo com Sangoi *et al.* (2011), dentre os cereais de importância econômica, o milho apresenta a menor capacidade de perfilhamento. Portanto, fatores que possam intervir na população inicial da lavoura, terão interferência sobre o seu rendimento.

3.5 Produção e uso agrícola da água residuária de suinocultura

A demanda por carne suína brasileira tem aumentado nos mercados interno e externo, exigindo-se aumento de produção. Consequentemente, implicando um aumento de resíduos gerados pela agroindústria suinícola. O dejetos suíno pode servir como fertilizante para plantas de grandes culturas, utilizando o solo como meio de descarte para os dejetos e

de reciclagem de nutrientes para as plantas, se feito de maneira adequada (PRIOR *et al.*, 2013).

A suinocultura é uma das atividades agropecuárias de maior importância para o estado do Paraná, produzindo mais de 4,8 milhões de cabeças em 2014 (IBGE, 2015). Conforme a SEAB (2013), existem, aproximadamente, 130.000 propriedades que possuem suínos, contudo, estima-se que apenas 31.000 têm produção regular e de caráter comercial. Existem, ainda, negociações para exportação de carne suína para vários países, inclusive a China, maior consumidor mundial do produto. Em 2015, o Brasil exportou 9,8 milhões de toneladas, principalmente para Hong Kong, o maior comprador, com US\$ 323,7 milhões em 2011, mas também para a Ucrânia (US\$ 182,9 milhões), Argentina (US\$ 129,3 milhões) e Angola (US\$ 76,9 milhões) (BRASIL, 2015).

Trabalhos têm avaliado a aplicação de efluentes, neste caso, da suinocultura, nas mais diversas condições do solo: em culturas anuais, como milho (OLIVEIRA *et al.*, 2004; FREITAS *et al.*, 2005; CERETTA *et al.*, 2005; BERENQUER *et al.*, 2008), a soja (DAL BOSCO *et al.*, 2008; MAGGI *et al.*, 2011) e o feijão (DOBLINSKI *et al.*, 2010); culturas perenes, como salgueiro (CAVANAGH; GASSER; LABRECQUE, 2011); na fruticultura e em hortaliças, como é o caso do maracujá (CRUZ *et al.*, 2008) e da alface (BAUMGARTNER *et al.*, 2007); em condições de pastagem natural (DURIGON *et al.*, 2002; GATIBONI *et al.*, 2008); com forrageiras (QUEIROZ *et al.*, 2004; SMITH *et al.*, 2007); dentre outros. Em alguns desses estudos, objetivou-se analisar a influência da ARS sobre o rendimento agrônomo da planta e, em outros casos, analisar os impactos ambientais causados pelo excesso de nutrientes liberados no meio ambiente. Esses estudos já relataram que a aplicação de água residuária, como alternativa aos fertilizantes, apresenta efeitos no solo muito semelhantes aos de fertilizantes químicos. Entretanto, a aplicação é feita antes da semeadura da cultura principal, perdendo grande parte do nitrogênio aplicado por volatilização e/ou lixiviação (SAMPAIO *et al.*, 2010).

A utilização de águas residuárias de suinocultura em lavouras, como fertilizante ou forma de descarte, é prática rotineira e, às vezes, a única fonte de nutrientes à planta, sendo uma forma de amenizar os custos de produção, visando ao aumento do lucro das pequenas propriedades (MAGGI *et al.*, 2011).

A aplicação de resíduos orgânicos no solo pode ser uma forma de repor elementos extraídos pelas plantas, complementando ou substituindo fertilizantes minerais recomendados nos programas de adubação. Nesse sentido, pesquisas são realizadas para avaliar modificações químicas, tanto em termos de disponibilidade de nutrientes (JUNIO *et al.*, 2011), quanto em sua mobilidade no solo (SMANHOTTO *et al.*, 2010) e ambiente

(CABRAL *et al.*, 2011). Essas alterações dependem de condições edáficas, manejo do solo e culturas, doses e frequência de aplicação do dejetos (JOKELA *et al.*, 2009).

As taxas de aplicação de águas residuárias usadas na produção agrícola devem ser suficientes para suprir a demanda das plantas por nutrientes (FREITAS *et al.*, 2005). Para tanto, seu uso agrícola deve ser monitorado para que os atributos que caracterizam valor fertilizante para as plantas não acarretem contaminação ambiental (CAVALLET *et al.*, 2006). Cada metro cúbico de esterco suíno líquido contém, em média, 2,8 kg de N, 2,4 kg de P_2O_5 , 1,5 kg de K_2O_5 , 2,0 kg de Ca, 0,8 Mg e 3% de matéria seca (SBCS, 2004).

O dejetos líquido dos suínos contém matéria orgânica: N, P, K, Ca, Na, Mg, Fe, Zn e Cu, além de outros elementos incluídos nas dietas dos animais (PERDOMO, 2003). Segundo Oliveira (2001), os suínos excretam, na urina e nas fezes, de 40 a 60% do nitrogênio consumido e o nitrogênio excretado corresponde à parte do nitrogênio alimentar que não foi retirada pelo animal na forma de proteína corporal (suínos em crescimento).

A aplicação de águas residuárias de suinocultura pode ser utilizada na cultura do milho para silagem promovendo incrementos no crescimento das plantas sem ocasionar alteração no teor de nitrogênio e fósforo na matéria seca das plantas (CANGANI, 2011).

A utilização de águas residuárias de suinocultura na agricultura é alternativa para o controle da poluição das águas superficiais e subterrâneas, disponibilização de água e fertilizantes para as culturas, reciclagem de nutrientes e aumento da produção agrícola, além de concorrer para a preservação do ambiente (BATISTA *et al.*, 2008; MEDEIROS *et al.*, 2008). O uso de água residuária de suinocultura, não é um conceito novo, tem sido praticado em todo o mundo e vem ganhando importância pela redução da disponibilidade de recursos hídricos e por apresentar boa qualidade como fertilizante (CAOVILLA *et al.*, 2010).

A aplicação de dejetos suíno pode ter efeitos sobre o solo, nas doses de 50 e 100 $m^3 ha^{-1}$, reduz a estabilidade de agregados do solo, em relação a tratamentos sem adubação. Os atributos físicos do solo e o teor de C orgânico não foram modificados pelos tratamentos, indicando que o uso agrícola do dejetos suíno, mantém a qualidade física do solo, quando cultivado com milho e aveia preta (ARRUDA *et al.*, 2010). Quando cultivado com soja ocorre a redução da macroporosidade do solo, o que pode, a longo prazo, causar perdas de solo e aumento da suscetibilidade à erosão (PACHECO *et al.*, 2009).

Segundo Laslowski (2004), como o biofertilizante é o resultado da fermentação dos dejetos no biodigestor, não tem custo adicional no sistema para sua obtenção e pode ser usado como adubo orgânico.

Na urina de suínos, a quantidade de nitrogênio excretada será tanto maior quanto mais elevado for o nível na dieta (LUDKE *et al.*, 2003; PERDOMO, 2003).

As quantidades e as frequências com que as dejeções animais podem ser aplicadas ao solo variam com o tipo de solo, com a natureza e composição dos resíduos, com as condições climáticas e com a espécie vegetal cultivada. De acordo com Matos (1997), a dose de aplicação do resíduo pode ser determinada com base na concentração do nutriente presente em maior concentração, o qual, geralmente, é o nitrogênio.

Em experimento com duração de 17 anos, Scherer *et al.* (2012) relataram que sucessivas aplicações de esterco líquido de suínos para suprimento de nitrogênio às plantas não influenciam a acidez do solo, enquanto que o nitrato de amônio, nas mesmas condições, aumenta a acidez do solo, os teores de alumínio trocável e a acidez potencial, até 30 cm de profundidade. A aplicação superficial de nitrato de amônio no sistema plantio direto proporciona a formação de uma frente acidificante no perfil do solo, o que diminui os valores de saturação com bases e aumenta os valores de saturação com alumínio em profundidade, sendo estes, proporcionais às doses aplicadas. O esterco líquido de suínos, nas doses de 0, 60, 120 e 180 kg ha⁻¹, para suprimento de nitrogênio às plantas, mantém os teores de Ca²⁺ e de Mg²⁺ em níveis adequados no solo, enquanto o nitrato de amônio causa redução da disponibilidade desses nutrientes no solo, sendo essa redução proporcional às doses aplicadas. O ambiente para o desenvolvimento das plantas pode ser melhorado com a utilização do esterco líquido de suínos como fonte de nitrogênio, em substituição à adubação nitrogenada amoniacal, de caráter acidificante.

Nesse contexto, tornam-se necessárias as opções que contribuam na solução dos problemas ambientais ocasionados por esse setor, propondo alternativas que sejam técnica e economicamente viáveis e ambientalmente aceitas pela sociedade. A utilização de efluente de suinocultura é recomendável, porquanto estudos demonstram que a produtividade agrícola aumenta significativamente em áreas fertirrigadas com águas residuárias, quando manejadas adequadamente (BOLZANI *et al.* 2012).

REFERÊNCIAS

- AKBARI, P.; GHALAVAND, A.; SANAVY, A. M. M.; ALIKHANI, M. A. The effect of biofertilizers, nitrogen fertilizer and farmyard manure on grain yield and seed quality of sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Journal of Agricultural Technology**, Tehran, v. 7, n. 1, p. 173-184, 2011.
- ANDREOLI, C.; ANDRADE, R. V.; ZAMORA, S. A.; GORDON, M. Influência da germinação da semente e da densidade de semeadura no estabelecimento do estande e na produtividade de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 1-5, 2002.
- ARRUDA, C. A. O.; ALVES, M. V.; MAFRA, A. L.; CASSOL, P. C.; ALBUQUERQUE, J. A.; SANTOS, J. C. P. Aplicação de dejetos suíno e estrutura de um Latossolo Vermelho sob semeadura direta. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 804-809, 2010.
- ASKARY, M.; MOSTAJERAN, A.; AMOOAGHAEI, R.; MOSTAJERAN, M. Influence of the Co-inoculation *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium meliloti* plus 2,4-D on Grain Yield and N, P, K Content of *Triticum aestivum* (Cv. Baccros and Mahdavi). **American-Eurasian Journal Agricultural & Environmental Science**, Deira, v. 5, n. 3, p. 296-307, 2009.
- BAALBAKI, R.; ELIAS, S.; MARCOS-FILHO, J.; McDONALD, M. B. Association of official seed analysts. **Seed vigor testing handbook**. Ithaca, 2009. 341 p. (Contribution, 32).
- BAGHERI, A. R. Effect of salinity and inoculation with *Azospirillum* on carbohydrate production, nitrogen status and yield of barley. **African Journal of Biotechnology**, Abraka, v. 10, n. 45, p. 9089-9096, 2011.
- BARROS, G. S. A. C.; ALVES, L. R. A. Maior eficiência econômica e técnica depende do suporte das políticas públicas. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 13, n. 1, p. 4-7, 2015.
- BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J. J.; LEVYA, L. A.; HERNANDEZ, J. P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, Firenze, v. 42, p. 279-285, 2006.
- BATISTA, R. O.; OLIVEIRA, R. A.; CECON, P. R.; SOUZA, J. A. R.; BATISTA, R. O. Filtração de água residuária de suinocultura em peneiras estacionárias inclinadas. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 16, n. 4, p. 465-470, 2008.
- BAUMGARTNER, D.; SAMPAIO, S. C.; SILVA, T. R.; TEO, C. R. P. A.; VILAS BOAS, M. A. Reúso de águas residuárias da piscicultura e da suinocultura na irrigação da cultura da alface. **Revista Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 152-163, 2007.
- BERENQUER, P.; CELA, S.; SANTIVERI, F.; BOIXADERA, J.; LLOVERAS, J. Copper and Zinc soil accumulation and plant concentration in irrigated maize fertilized with liquid swine manure. **Waste Management**, v. 100, n. 4, p. 1056-106, 2008.
- BEVILAQUA, G. A. P.; BROCH, D. L.; POSSENTI, J. C. Efeito da dose e da posição do fertilizante na absorção de nutrientes e estabelecimento de plântulas de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 18, n. 1, p. 45-49, 1996.

BEYRANVAND, H.; FARNIA, A.; NAKHJAVAN, S. H.; SHABAN, M. Response of yield and yield components of maize (*Zea mays* L.) to different bio fertilizers. **International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research**. v. 1, n. 9, p. 1068-1077, 2013.

BIARI, A.; GHOLAMI, A.; RAHMANI, H.A. Growth promotion and enhanced nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria in arid region of Iran. **Journal of Biological Sciences**, Riyadh, v. 8, n. 6, p. 1015-1020, 2008.

BITTENCOURT, S. R. M.; GRZYBOWSKI, C. R. S. ROBERVAL, M. P.; VIEIRA, D. Metodologia alternativa para condução do teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p. 1360-1365, 2012.

BOLZANI, H. R.; OLIVEIRA, D. L. O.; LAUTENSCHLAGER, S. R. Efeito da aplicação de água residuária de suinocultura no solo e na qualidade dos seus lixiviados. **Engenharia Sanitária Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 4. p. 385-392, 2012.

BONO, J.; RODRIGUES, A.; MAUAD, M.; ALBUQUERQUE, J.; YAMAMOTO, C.; CHERMOUTH, K.; FREITAS, M. Modo de aplicação de fertilizantes nitrogenados na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 1, n. 2, p. 91-102, 2008.

CABRAL, J. R.; FREITAS, P. S. L.; REZENDE, R.; MUNIZ, A. S.; BERTONHA, A. Impacto da água residuária de suinocultura no solo e na produção de capim-elefante. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 8, p. 823–831, 2011.

CALONEGO, J. C.; POLETO, L. F.; DOMINGUES, F. N.; TIRITAN, C. S. Produtividade e crescimento de milho em diferentes arranjos de plantas. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 4, n. 12, p. 84-90, 2011.

CANGAHUALA-INOCENTE, G. C.; AMARAL, F. P.; FALEIRO, A. C.; HUERGO, L. F.; ARISI, A. C. M. Identification of six differentially accumulated proteins of *Zea mays* seedlings (DKB240 variety) inoculated with *Azospirillum brasilense* strain FP2. **European Journal of Soil Biology**, Braunschweig, v. 58, s/n, p. 45-50, 2013.

CANGANI, T. M. **Tratamento anaeróbio-aeróbio de águas residuárias de suinocultura e reúso na produção de milho para silagem**. 2001. 222 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2011.

CAOVILLA, F. A.; SAMPAIO, S. C.; SMANHOTTO, A.; NOBREGA, L. H. P.; QUEIROZ, M. M. F.; GOMES, B. M. Características químicas de solo cultivado com soja e irrigado com água residuária da suinocultura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 7, p. 692-697, 2010.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) **European Journal of Soil Biology**, Braunschweig, v. 45, s/n, p. 28-35, 2009.

CAVALLET, L. E.; LUCCHESI, L. A. C.; MORAES, A.; SCHIMIDT, E.; PERONDI, M. A.; FONSECA, R. A. Melhoria da fertilidade do solo decorrentes da adição de água residuária da indústria de enzimas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 10, n. 3, p. 724–729, 2006.

CAVANAGH, A.; GASSER, M.O.; LABRECQUE, M. Pig slurry as fertilizer on willow plantation. **Biomass and Bioenergy**, Aberdeen, v. 35, n. 10, p. 4165-4173, 2011.

CELA, S.; BERENQUER, P.; SANTIVERI, F.; LLOVERAS, J. Potential phosphorus, potassium, and magnesium surpluses in an irrigated maize monoculture fertilized with pig slurry. **Agronomy Journal**, Madison, v. 102, n. 1, p. 96-102, 2010.

CERETTA, C. A.; BASSO, C. J.; VIEIRA, F.; HERBES, M. Produtividade de grãos de milho, produção de matéria seca e acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio na rotação aveia preta/milho/nabo forrageiro com aplicação de dejetos líquidos de suíno. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1287-1295, 2005.

COIMBRA, J. L. M. *et al.* Mineração da interação genótipo x ambiente em *Phaseolus vulgaris* L. para o Estado de Santa Catarina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 2, p. 355-363, 2009.

CONTINI, E.; TALAMINI, D. J. D.; VIEIRA, P. A. Cenário mundial de commodities: frango, soja e milho. *In*: CONFERÊNCIA FACTA, Campinas, 2013. **Anais...** Campinas: Facta, 2013. 1 CD-ROM. 58 p. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/968636/1/final7198.pdf>. Acesso em: 13/05/2016.

COSTA, F. X.; LIMA, V. L. A.; BELTRÃO, N. E. M.; AZEVEDO, C. A. V.; SOARES, F. A. L.; ALVA, I. D. M. Efeitos residuais da aplicação de bio sólidos e da irrigação com água residuária -no crescimento do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 13, n. 6, p. 687-893, 2009.

COSTA, M. S. S. M.; STEINER, F.; COSTA, L. A. M.; CASTOLDI, G.; PIVETTA, L. A. Nutrição e produtividade da cultura do milho em sistemas de culturas e fontes de adubação. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 2, p. 249-255, 2011.

COTE, R. E.; GAMA, R. M. R.; REYES, G. T.; SEGOVIA, A. O.; HUANTE, P. *Azospirillum lipoferum* strain AZm5 containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase improves early growth of tomato seedlings under nitrogen deficiency. **Plant and Soil**, Crawley, v. 337, n. 1, p. 65-75, 2010.

COUILLEROT, O.; BOUFFAUD, M. L.; BAUDOIN, E.; MULLER, D.; MELLADO, J. C.; LOCCOZ, Y. M. Development of a real-time PCR method to quantify the PGPR strain *Azospirillum lipoferum* CRT1 on maize seedlings. **Soil Biology & Biochemistry**, Brisbane, v. 42, n. 1, p. 2298-2305, 2010.

COUILLEROT, O.; RAMÍREZ-TRUJILLO, A.; WALKER, V.; VON FELTEN, A.; JANSÁ, J.; MAURHOFER, M.; DÉFAGO, M.; PRIGENT-COMBARET, C.; COMTE, G.; MELLADO, J.C.; MOËNNE-LOCCOZ, Y. Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum*-*Pseudomonas*-*Glomus* consortia for promotion of maize growth. **Application Microbiology and Biotechnology**, Verlag, v. 97, n. 1, p. 4639-4649, 2013.

CRUZ, M. C. M.; RAMOS, J. D.; OLIVEIRA, D. L.; MARQUES, V. B.; HAFLE, O. M. Utilização de água residuária de suinocultura na produção de mudas de maracujazeiro-azedo cv redondo amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 1107-1112, 2008.

DAL BOSCO, T. C.; SAMPAIO, S. C.; OPAZO, M. A. U.; GOMES, S. D.; NÓBREGA, L. H. P. Aplicação de água residuária de suinocultura em solo cultivado com soja: Cobre e Zinco no material escoado e no solo. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 28, n. 4, p. 699-709, 2008.

DASH, D. K.; MISHRA, N. C.; SAHOO, B. K. Influence of nitrogen, *Azospirillum sp* and farm yard manure on the yield, rhizome rot and quality of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). **Journal of Spices and Aromatic Crops**, Kerala, v. 17, n. 2, p. 177-179, 2008.

DIAS, M. A. N.; MONDO, V. H. V.; CICERO, S. M. Vigor de sementes de milho associado à mato-competição. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 93-101, 2010.

DOBLINSKI, A. F.; SAMPAIO, S. C.; SILVA, V. R.; NÓBREGA, L. H. P.; GOMES, S. D.; DAL BOSCO, T. C. Nonpoint source pollution by swine farming wastewater in bean crop. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 1, p. 87-93, 2010.

DURIGON, R.; CERETTA, C. A.; BASSO, C. J.; BARCELLOS, L. A. R.; PAVINATO, P. S. Produção de forragem em pastagem natural com o uso de esterco líquido de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 983-992, 2002.

EVANS, L. S.; GMUR, N. F.; COSTA, F. Leaf surface and histological perturbations of leaves of *Phaseolus vulgaris* and *Helianthus annuus* after exposure to simulated acid rain. **American Journal of Botany**, Washington, n. 64, p. 903-913. 1977.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba - RS: Agropecuária, 2000. 36 0p.

FAVERO, C.M.; CREUS, C.M.; SIMONTACCHI, M.; PUNTARULO, S.; LAMATTINA, L. Aerobic nitric oxide production by *Azospirillum brasilense* sp245 and its influence on root architecture in tomato. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Columbia, v. 21, n. 7, p. 1001-1009, 2008.

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

FEY, R.; LANA, M. C.; ZOZ, T.; RICHART, A.; LUCHESE, E. B. Relações entre lixiviação de nitrato e produção de biomassa do milho com dejetos suínos provenientes de diferentes tratamentos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, n. 2, p. 212-218, 2010.

FREITAS, W. S.; OLIVEIRA, R. A.; CECON, P. R.; PINTO, F. A.; GALVÃO, J. C. C. Efeito da aplicação de águas residuárias de suinocultura em solo cultivado com milho. **Engenharia na Agricultura**, Jaboticabal, v. 13, n. 2, p. 95-102, 2005.

GATIBONI, L. C.; BRUNETTO, G.; KAMINSKI, J.; RHEINHEIMER, D. S.; CERETTA, C. A.; BASSO, C. J. Formas de Fósforo no solo após sucessivas adições de dejetos líquidos de suínos em pastagem natural. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 1753-1761, 2008.

HUERGO, L. F. **Regulação do metabolismo de nitrogênio em *Azospirillum brasilense***. 2006. 187 f. Tese (Doutorado em Ciências – Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná. 2006, Curitiba.

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. 80 p.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Crowley, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, 2010.

IKEDA, S.; OKUBO, T.; ANDA, M.; NAKASHITA, H.; YASUDA, M.; SATO, S.; KANEKO, T.; TABATA, S.; EDA, S.; MOMIYAMA, A.; TERASAWA, K.; MITSUI, H.; MINAMISAWA, K. Community- and genome-based views of plant-associated bacteria: plant-bacterial interactions in soybean and rice. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 51, n. 9, p. 1398-1410, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Indicadores IBGE**: Estatística da produção pecuária. Junho de 2012. Rio de Janeiro: IBGE, 2012, 35 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Indicadores IBGE**: Estatística da Produção Pecuária. 2015. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201105_publ_completa.pdf>. Acesso em: 16 jan. 2016.

JOKELA, W. E.; GRABBER, J. H.; KARLEN, D. L.; BALSER, T. C.; PALMQUIST, D. E. Cover crop and liquid manure effects on soil quality indicators in a corn silage system. **Agronomy Journal**, Madison, v. 101, n. 4, p. 727-737, 2009.

JUNIO, G. R. Z.; SAMPAIO, R. A.; SANTOS, G. B.; NASCIMENTO, A. L.; PRATES, F. B. S.; FERNANDES, L. A. Metais pesados em milho fertilizado com fosfato natural e composto de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 10, p. 1082-1088, 2011.

KLOEPFER J.W., HUME D.J., SCHER F.M., SINGLETON C., TIPPING B., LALIBERTÉ M., FRAULEY K., KUTCHAW T., SIMONSON C., LIFSHITZ R., ZALESKA I., LEE L., Plant growth-promoting rhizobacteria on canola (rapeseed). **Plant Disease**, v. 72, s/n, p. 42-45, 1989.

LAI, W. A.; REKHA, P. D.; ARUN, A. B.; YOUNG, C. C. Effect of mineral fertilizer, pig manure, and *Azospirillum rugosum* on growth and nutrient contents of *Lactuca sativa* L. **Biological Fertilizer Soils**, Taichung, v. 45, n. 2, p. 155-164, 2008.

LASLOWSKI, M. **Avaliação ambiental e econômica do biogás, obtido através da biodigestão anaeróbia dos dejetos da suinocultura**. 2004. 63 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) - Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2004.

LIN, S.; NJAA, L. R.; EGGUM, B. O.; SHEN, H. Chemical and biological evaluation of silk worm chrysalid protein. **Journal of. Sciences of Food and Agriculture**, v. 34, n. 8, 1983, p. 896-899.

LOPES, A. S.; WIETHÖLTER, S.; GUILHERME, L. R. G.; SILVA, C. A. **Sistema plantio direto: bases para o manejo da fertilidade do solo**. São Paulo, 2004. 110 p.

LUDKE, J. V.; LUDKE, M. C. M. M. Produção de suínos com ênfase na preservação do ambiente. **Suinocultura Industrial**, Porto Feliz, ed.168, n.3, p.10-12, 2003.

MAGGI, C. F.; FREITAS, P. S. L.; SAMPAIO, S. C.; DIETER, J. Lixiviação de nutrientes em solo cultivado com aplicação de água residuária de suinocultura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 2, p. 170–177, 2011.

MARTIN, T. N.; VENTURINI, T.; API, E.; PAGNONCELLI, A.; VIEIRA JÚNIOR, P. A. Perfil do manejo da cultura de milho no sudoeste do Paraná. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 1, p. 1-8, 2011.

MATOS, A. T.; SEDIYAMA, M. A. N.; FREITAS, S. P.; VIDIGAL, S. M.; GARCIA, N. C. P. Características químicas e microbiológicas do solo influenciadas pela aplicação de dejetos líquido de suínos. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 44, n. 254, p. 399-410, 1997.

MEDEIROS, J. C.; ALBUQUERQUE, J. A.; MAFRA, A. L.; ROSA, J. D.; GATIBONI, L. C. Relação cálcio:magnésio do corretivo da acidez do solo na nutrição e no desenvolvimento inicial de plantas de milho em um Cambissolo Húmico Álico. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 799-806, 2008.

MEHNAZ S., KOWALIK T., REYNOLDS B., LAZAROVITS G. Growth promoting effects of corn (*Zea mays*) bacterial isolates under greenhouse and field conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Marshall, v. 42, n. 3, p. 1848–1856, 2010.

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

MOHAMMADI, G. R.; GHOBADI, E. G.; SHEIKHEH-POOR, S. Phosphate biofertilizer, row spacing and plant density effects on corn (*Zea mays* L.) yield and weed growth. **American Journal of Plant Sciences**, Madison, v. 3, n. 1, p. 425-429, 2012.

OHLSON, O. C.; KRZYZANOWSKI, F. C. CAIEIRO, J. T.; PANOBIANCO, M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 118 - 124, 2010.

OKUMURA, R. S.; MARIANO, D. C.; ZACCHEO, P. V. C. Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava, v. 4, p. 226-244, 2011.

OLIVEIRA, M. F. B.; SALVADOR, A.; LEITE, M. A. S.; MAHL, D.; GRECO, C. R.; MARQUES, J. P.; COSTA, A. M.; PONTES, J. R. V.; SILVA, A. R. B.; BENEZ, S. H. 2001. Produção de matéria seca e de grãos nas culturas de aveia de aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) e triticales (*Triticum turgidocereale* (Kiss) Mackey), sob diferentes sistemas de preparo do solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 30, 2001, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, PR: CONBEA, 2001. p. 138-143.

OLIVEIRA, M.A.; ZUCARELI, C.; SPOLAOR, L.T.; DOMINGUES, A.R. E FERREIRA, A.S. Desempenho agrônomico do milho sob adubação mineral e inoculação das sementes com rizobactérias. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n.10, p.1040-1046, 2012.

OLIVEIRA, P. A. V. Sistema de produção de suínos em cama sobreposta. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO DA SUINOCULTURA, 9, 2001, Gramado. **Anais...** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2001. p. 44-55.

OLIVEIRA, R. A.; FREITAS, W. S.; GALVÃO, J. C. F.; PINTO, F. A.; CECON, P. R.; Efeito da aplicação de águas residuárias de suinocultura nas características nutricionais do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 3, p. 357-369, 2004.

PACHECO, F. P.; TONINI, M., NÓBREGA, L.H.P.; SANTORUM, M.; DAL BOSCO, T.C.; SAMPAIO, S.C. Monitoramento das propriedades físicas do solo irrigado com água residuária no cultivo da soja. *In*: Di LEO, N; MONTICO, S.; NARNÓN, G. **Avances en Ingeniería Rural 2007-2009**. 1. ed. Rosario: UNR Editora, 2009. p. 796-804.

PERDOMO, C. C. Otimização do sistema de tratamento. Decantador de palhetas e lagoas anaeróbicas facultativas e de aguapés *In*: SIMPÓSIO INTERNAZIONALE DI ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 11, 2003. São Paulo. **Anais...** São Paulo: USP, 2003. p. 447-448.

PRIOR, M.; SAMPAIO, S. C.; NOBREGA, L. H. P.; URIBE, M. A. O.; DIETER, J.; PEGORARO, T. Combined pig slurry and mineral fertilization for corn cultivation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 56, n. 2, p. 337-348, 2013.

QUEIROZ, F. M.; MATOS, A. T. PEREIRA, O. G.; OLIVEIRA, R. A. de. Características químicas de solo submetido ao tratamento com esterco líquido de suínos e cultivado com gramíneas forrageiras. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1487-1492, 2004.

RAMBO, L.; SILVA, P. R. F.; STRIEDER, M. L.; SILVA, A. A.; SANGOI, L.; VIEIRA, V. M. Índices nutricionais de N e produtividade de milho em diferentes níveis de manejo e de adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 4, p. 390-397, 2011.

REINA, E.; AFFÉRI, F. S.; CARVALHO, E. V.; DOTT, M. A.; PELUZIO, J. M. Efeito de doses de esterco bovino na linha de semeadura na produtividade de milho. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Fortaleza, v. 5, n. 5, p. 158-164, 2010.

ROBERTO, V. M. O.; SILVA, C. D.; LOBATO, P. N. Resposta da cultura do milho a aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente. *In*: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28, 2010, Goiânia - GO. **Anais...** Goiânia: EMBRAPA, 2010, 1 CD-ROM.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v. 17, p. 319-339, 1999.

SALAZAR, J. R.; SUAREZ, R.; MELLADO, R. C.; ITURRIAGA, G. Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize plants. Federation of European Microbiological Societies (FEMS), **Microbiology Letter**, Birmingham, v. 296, n. 37, p. 52-59, 2009.

SAMPAIO, S. C.; FIORI M. G. S.; URIBE-OPAZO, M. A.; NÓBREGA, L. H. P. Comportamento das formas de nitrogênio em solo cultivado com milho irrigado com água residuária de suinocultura. **Engenharia Agrícola**. Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 138-149. 2010.

SANGOI, L.; ERNANI, P. R.; BIANCHET, P.; VARGAS, V. P.; PICOLLI, G. J. Efeito de doses de cloreto de potássio sobre a germinação e o crescimento inicial do milho, em solos com texturas contrastantes. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 8, p. 187-197, 2009.

SANGOI, L.; SCHWEITZER, C.; SILVA, P. R. F.; SCHMITT, A.; VARGAS, V. P.; CASA, R. T.; SOUZA, C. A. Perfilamento, área foliar e produtividade do milho sob diferentes arranjos espaciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 6, p. 609-616, 2011.

SANNATHIMMAPPA, H. G.; BABU, M. S. G.; RAMAPPA, A. S. P.; KUMARA, O. Effect of integrated nutrient management on nutrient balance sheet and yield of maize in Southern Transitional Zone of Karnataka. **Environment and Ecology**, Lancaster, v. 29, n. 2A, p. 763-767, 2011.

SANTA, O. R. D.; SANTA, H. S. D.; FERNÁNDEZ, R.; MICHELENA, G.; RONZELLI JÚNIOR, P.; SOCCOL, C. R. Influence of *Azospirillum sp.* inoculation in wheat, barley and oats. **Ambiência**, Guarapuava, v. 4, n. 2, p. 197-207, 2008.

SANTOS, M. H. V.; ARAÚJO, A. C.; SANTOS, D. M. R.; LIMA, N. S.; LIMA, A. C. A.; LIMA, C. L. C.; SANTIAGO, A. D. Uso da manipueira como fonte de potássio na cultura da alface (*Lactuca sativa*, L.) cultivada em casa-de-vegetação. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 3, p. 729-733, 2010.

SCHERER, E.E.; SPAGNOLLO, E., MATTIAS, J.L.; BALDISSERA, I.T. Efeito do uso prolongado de esterco líquido de suínos e adubo nitrogenado sobre os componentes da acidez do solo. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 25, n. 2, p. 68-73, 2012.

SHAKERI, E.; MODARRES-SANAVY, S. A. M.; DEHAGHI, M. A.; TABATABAEI, S. A.; MORADI-GHAHDRIJANI, M. Improvement of yield, yield components and oil quality in sesame (*Sesamum indicum* L.) by N-fixing bacteria fertilizers and urea. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 62, n. 4, p. 547-560, 2016.

SILVA, T. R. B.; GUZELLA, E. R.; FREITAS, L. B.; MAIA, S. C. M. Efeito da aplicação de nitrogênio em cobertura e zinco via foliar no milho safrinha em semeadura direta. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 2, n. 3, p. 29-39, 2009.

SMANHOTTO, A.; SOUSA, A. P.; SAMPAIO, S. S.; NÓBREGA, L. H. P.; PRIOR, P. Cobre e zinco no material percolado e no solo com a aplicação de água residuária de suinocultura em solo cultivado com soja. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 347-357, 2010.

SMITH, D. R; OWENS, P. R; LEYTEM, A. B; WARNEMUEND, E. A. Nutrient losses from manure and fertilizer applications as impacted by time to first runoff event. **Environmental Pollution**, v. 147, p. 131-137, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO - SBCS. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo; Comissão de Química e Fertilidade do Solo, 2004. 400 p.

SOLOGUREN, L. Demanda mundial cresce e Brasil tem espaço para expandir produção. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 13, n. 1, p. 8-12. 2015.

SORATTO, R. P.; SILVA, Â. H.; CARDOSO, S. M.; MENDONÇA, C. G. Doses e fontes alternativas de nitrogênio no milho sob plantio direto em solo arenoso. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 62-70. 2011.

TIRITAN, C. S.; SANTOS, D. H.; BORDINI, R. A.; FOLONI, J. S. S.; ONISHI, R. Y. Produção de matéria seca de milho em função da adubação fosfatada mineral e organomineral. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 6, n. 1, p. 1-7, 2010.

TONINI, M.; NÓBREGA, L. H. P.; DAL BOSCO, T.; SAMPAIO, S. C.; SMANHOTTO, A.; PACHECO, F. P. Development and quality of soybean seeds under swine waste water. *In*: INTERNATIONAL CONFERENCE OF AGRICULTURAL ENGINEERING, 2008. Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: [s. e], 2008.

UHVITS, R. Effect of osmotic pressure on water absorption and germination of alfalfa seeds. **American Journal of Botany**, St Louis, v. 33, n. 1, p. 278-285, 1946.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. World agricultural supply and demand estimates. **United States Department of Agriculture**, v. 1, n. 549. 2016. 40 p. Disponível em: <http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2016.

ZAWOZNIK, M. S.; AMENEIROS, M.; BENAVIDES M. P.; VÁZQUEZ, S.; GROPPA, M. D. Response to saline stress and aquaporin expression in *Azospirillum*-inoculated barley seedlings. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 90, n. 4, 2011, p. 1389.

ZORITA, M. D.; CANIGIA, M. V. F. Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum brasilense* on dryland wheat productivity. **European Journal of Soil Biology**, Braunschweig, v. 45, p. 3-11, 2009.

**ARTIGO 1: DESENVOLVIMENTO INICIAL DE MILHO INOCULADO COM *AZOSPIRILLUM*
BRASILENSE E FERTILIZADO COM ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA E
FERTILIZANTE MINERAL**

RESUMO

Práticas de manejo agrícola têm sido estudadas, visando aumentar o vigor e o crescimento das plantas com baixo custo de produção. As bactérias fixadoras de nitrogênio juntamente com uso de biofertilizante podem ser alternativas para diminuir o custo de produção de milho, porém não há estudos que avaliem a interação entre a fonte de nutrientes utilizada e a inoculação com bactérias diazotróficas no cultivo do milho. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso da água residuária de suinocultura como biofertilizante no desenvolvimento inicial do milho inoculado com bactérias diazotróficas. O experimento foi realizado no estado do Mississippi – EUA, em casa de vegetação. Três taxas de aplicação biofertilizante foram utilizadas (correspondentes às doses de 0; 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, respectivamente) e a fertilização mineral nas mesmas doses, com e sem inóculo, totalizando dez tratamentos, com quatro repetições cada. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste SNK, a 5% de probabilidade. A inoculação com *Azospirillum brasilense* promoveu crescimento das raízes laterais e encurtamento das raízes principais das plântulas de milho. A interação entre a água residuária de suinocultura e a bactéria *A. brasilense* foi benéfica e pode ser uma alternativa de baixo custo ao uso de fertilizantes minerais.

Palavras-chave: emergência de plântulas, fixação biológica de nitrogênio, *Zea mays* L.

PAPER 1: INITIAL DEVELOPMENT OF MAIZE INOCULATED WITH *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* AND FERTILIZED WITH SWINE WASTEWATER

ABSTRACT

Management practices have been studied and are aimed at increasing vigor and plant growth with low production cost. The nitrogen fixing bacteria associated to the use of bio-fertilizers can be an alternative to reduce costs of maize crop production. On the other hand, there are no studies concerning the interaction between nutrient source and inoculation with diazotrophs in order to evaluate maize growth. Thus, this study aimed at evaluating the use of swine wastewater as biofertilizer in the initial development of maize inoculated with diazotrophs bacteria. The experiment was carried out in Mississippi State in a greenhouse. Three bio-fertilizer application rates were used (corresponding to 0, 30 and 60 kg ha⁻¹ nitrogen doses, respectively) and mineral fertilization at the same doses, with and without inoculum, totalizing ten treatments and four replications each. Data were submitted to ANAVA and averages were compared by SNK test at 5% probability. The use of *Azospirillum brasilense* increased secondary roots growth and shortening of the main roots in maize seedlings. The interaction between swine wastewater and *A. brasilense* was beneficial and can be a low-cost alternative to the use of mineral fertilizers.

Keywords: biological nitrogen fixation, seedling emergence, *Zea mays* L.

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma cultura importante no mundo em virtude de sua diversidade de utilização, extensão da área cultivada e elevada capacidade produtiva. Os maiores produtores mundiais são os Estados Unidos, a China e o Brasil. Porém, o manejo inadequado da adubação ainda é um dos principais fatores que contribuem para que não ocorra aumento da produtividade (USDA, 2016).

Os fertilizantes, em sua grande maioria, são sais cuja aplicação pode prejudicar a germinação das sementes e o desenvolvimento inicial das plântulas, caso sejam colocados no solo próximo a elas (TAVARES *et al.*, 2013). Quando a concentração de sais da solução do solo for maior que a da semente, ocorre o efeito negativo sobre a germinação (DESAI; KOTTECHA; SALUNKE, 2004).

O efeito do fertilizante sobre a germinação acontece pela alta concentração de sais e dificulta a absorção de água pelas plântulas, devido ao aumento da pressão osmótica externa às células (MARSCHNER, 1995). O excesso de sais na solução do solo pode comprometer o desenvolvimento radicular e vegetativo das plantas (SOUZA; FARINELLI; ROSOLEM, 2007), sendo mais evidentes, principalmente, em adubações mal realizadas do ponto de vista da localização dos adubos e também de quantidades acima da recomendação (TAVARES *et al.*, 2013). Com a finalidade de se aprimorar o manejo da adubação, novas tecnologias precisam ser estudadas e propostas com finalidade de maximizar os rendimentos nos cultivos de cereais, como o milho.

As quantidades de nitrogênio utilizadas pelos produtores variam entre 100 e 180 kg de N por hectare (FANCELI; DOURADO NETO, 2000). Em 1995, foram descobertas as potencialidades das bactérias diazotróficas microaeróbias, do gênero *Azospirillum*, fixadoras de nitrogênio atmosférico, quando em vida livre (BODDEY; DÖBEREINER, 1995) e, quando associadas à rizosfera das plantas, podem, possivelmente, contribuir com a nutrição nitrogenada dessas plantas.

A otimização da simbiose *Azospirillum* spp com milho pode resultar em incrementos de produtividade e em diminuição dos custos de produção, principalmente da aquisição de adubos nitrogenados (OKON; VANDERLEYDEN, 1997) que são usados intensamente na cultura do milho.

A aplicação de bactérias que promovem o crescimento das plantas na agricultura dependerá de interações complexas entre vários fatores, incluindo a natureza dos fertilizantes selecionados (LAI *et al.*, 2008). No entanto, devido aos custos econômicos e ambientais elevados do processo de fixação de nitrogênio para a produção de fertilizantes

nitrogenados, a agricultura enfrenta o desafio de aumentar o rendimento do milho e, ao mesmo tempo reduzir a utilização de fertilizantes para tornar o sistema agrícola mais sustentável (MARINI *et al.*, 2015)

A principal dificuldade da utilização do *Azospirillum* na cultura do milho tem sido a inconsistência dos resultados de experimentos, que podem variar de acordo com a cultivar, condições edafoclimáticas e metodologia de condução da pesquisa (BARTCHECHEN *et al.*, 2010). A capacidade da população de microrganismos em promover o crescimento de plantas envolve mecanismos como a fixação biológica de nitrogênio, a produção de fitohormônios, solubilização de fosfato, o aumento na formação de pelos radiculares, formação de raízes laterais, inibição do crescimento de fungos e a indução de resistência sistêmica no hospedeiro (RODRIGUEZ; FRAGA, 1999; HAN *et al.*, 2005; DOTO *et al.*, 2010; ARAÚJO *et al.*, 2014).

Outra alternativa ao uso de fertilizantes minerais é a água residuária de suinocultura, a qual é um biofertilizante produzido em grandes quantidades e empregado no cultivo do milho. Ela contém N, P, K, Na, Mg, Ca, Cu, Fe, Zn, Mn e ácidos orgânicos (PENHA *et al.*, 2015). A presença de ácidos orgânicos pode aumentar a eficiência da infecção das bactérias nas plantas e estimulam o aumento de raízes laterais e sítios mitóticos, aumentando os pontos de infecção para as bactérias diazotróficas endofíticas, como o *Azospirillum brasilense* (MARQUES JÚNIOR, 2008).

A interação do uso do biofertilizante oriundo de suinocultura com bactérias diazotróficas ainda não foi testada, mas pode ser boa alternativa ao uso de fertilizantes minerais. Mantendo o controle sobre a água, solo, luz e temperatura do ambiente para se obter dados consistentes, justificando os experimentos em casa de vegetação.

Considerando esse contexto, estabeleceu-se como objetivo deste estudo avaliar a influência do uso da água residuária como biofertilizante no desenvolvimento inicial do milho inoculado com bactérias diazotróficas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização do experimento

O experimento foi conduzido no ano agrícola de 2015, em condições de casa de vegetação, no município de *Starkville - Mississippi*, pertencente à *Mississippi State*

University, departamento de agricultura da USDA/ARS, com coordenadas geográficas 33°27'01" de latitude norte e 88°49'10" de longitude oeste, altitude média de 106 m.

A casa de vegetação permaneceu em temperatura média de 25 °C, com 12 h de luz e irrigação automática para manter o solo na capacidade de campo durante os ensaios. As sementes foram inoculadas com cepas de *Azospirillum brasilense*, fornecidas pela empresa Nitro1000, com 1,5 cm³ de inóculo por quilo de sementes, estimando a quantidade mínima de 10⁸ células cm⁻³ de inoculante. A inoculação das sementes (sem tratamento com agroquímicos) foi realizada em recipiente desinfetado, duas horas antes da semeadura. As estirpes de *Azospirillum brasilense* utilizadas foram AbV-5 e AbV-6, cedidas pela Nitro1000®, na dose de 100 mL para 60.000 sementes, na concentração de 2,0 x 10⁸ ufc mL⁻¹. O inóculo foi preparado segundo Kuppusamy *et al.* (2011).

Os vasos de plásticos com capacidade de 3,5 dm³ (18 cm de diâmetro, 20 cm de profundidade) foram completados com 2,7 kg de solo homogeneizado (Tabela 1), coletado na profundidade de 0 a 15 cm de cultivo experimental de algodão, o qual não recebeu aplicação de água residuária de suinocultura ou fertilizantes. Em cada recipiente, dez sementes de milho foram semeadas em 17 de agosto de 2015. Cada vaso foi identificado e, em seguida, aplicado o respectivo tratamento, com quatro repetições cada, em dois períodos (segunda quinzena de agosto, primeira quinzena de setembro de 2015), com 40 vasos cada.

Tabela 1 Caracterização química do solo e da água residuária de suinocultura utilizados no experimento

N _{Total}	P _{disponível} (mg dm ⁻³)	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ²⁺	C _{Total}
0,249	4,1	0,0689	2,436	0,0315	0,0073	6,962
Cu	Fe	Mn	Zn	pH	Argila	
----- (mg kg ⁻¹) -----				H ₂ O	%	
0,3357	36,22	15,84	0,4432	7,1	50	
Água residuária de suinocultura						
P _{total}	K	Na	Ca	Mg	Amônia	Nitrato
----- (g kg ⁻¹) -----				----- (mg L ⁻¹) -----		
42,92	406,1	168,6	34,25	46,38	13,307	0,036
Cu	Zn	Fe	Mn	pH		
----- (mg kg ⁻¹) -----						
0,0586	0,1194	0,187	0,1121	7,9		

Três taxas de aplicação do biofertilizante foram utilizadas (correspondentes às doses de 0; 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, respectivamente) e a fertilização mineral nas mesmas doses, com e sem inóculo, totalizando dez tratamentos, com quatro repetições cada.

A fonte de N utilizada para os tratamentos com adubação mineral foi fertilizante 33-0-0, resultante da mistura de ureia e sulfato de amônio. Os tratamentos foram de 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio na semeadura. Estas são as doses médias utilizadas no Brasil (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000; AMARAL FILHO *et al.*, 2005; CANTARELLA *et al.*, 1997; COELHO, 2007; FARINELLI; LEMOS, 2012. PAVINATO *et al.*, 2008, SOUZA *et al.*, 2003;).

O biofertilizante foi proveniente de suinocultura, de um produtor próximo da região da área experimental do *United States Department of Agriculture* - USDA, na cidade de Okolona – *Mississippi*. Os teores de nutrientes do biofertilizante se encontram na Tabela 1

Tanto a água residuária de suinocultura quanto a ureia foram aplicadas entre as linhas de semeadura do vaso, segundo recomendações de Coelho e França (1995).

2.2 Índice de velocidade de emergência e velocidade de emergência

A primeira contagem do número de plântulas normais (%) foi realizada a partir do quarto dia após a semeadura, ou seja, quando as mesmas apresentavam o epicótilo sobre a superfície do solo. O índice de velocidade de emergência das plântulas foi conduzido anotando-se o número de plântulas que emergiram do quarto ao décimo quinto dias, em intervalos de 24 horas, segundo metodologia empregada por Maguire (1962). Essas avaliações foram feitas sempre no mesmo horário, até a estabilização dos dados, de acordo com Nakagawa (1999).

O índice de velocidade de emergência (IVE) foi calculado conforme Maguire (1962), pela Equação 1:

$$IVE = \sum_{n=1}^n (E_i/n_i) \quad (1)$$

Em que:

IVE = índice de velocidade de emergência;

E_i = número de plântulas normais computadas diariamente na primeira contagem, até a última contagem;

n_i = número de dias da semeadura até a primeira, até a segunda, até a última contagem.

A velocidade de emergência (VE) foi calculada segundo Edmond e Drapala (1958), *apud* Nakagawa (1999), Equação 2:

$$VE = \frac{(E_i n_i)}{\sum E_i} \quad (2)$$

Em que:

VE = velocidade de emergência;

E_i = número de plântulas normais computadas na contagem diária, na segunda contagem (...) até a última contagem;

N_i = número de dias da sementeira até a primeira, até a segunda (...) até a última contagem.

2.3 Comprimento de plântulas e massa seca

O comprimento das plântulas normais foi medido ao final do décimo quinto dia após a sementeira, com auxílio de régua graduada em milímetros. Uma lâmina foi utilizada para separar a parte aérea das raízes e estas foram medidas separadamente. Os valores obtidos para cada repetição foram somados e divididos pelo número de plântulas normais mensuradas (NAKAGAWA, 1999).

Conjuntamente com o teste de comprimento de plântulas foi determinada a massa da matéria seca do epicótilo e raízes, colocados em sacos de papel e levados para secagem em estufa com circulação de ar forçada a 65 °C, durante 72 h. Após a secagem, as amostras foram pesadas, utilizando-se uma balança analítica de precisão 0,001 g. A massa obtida para cada repetição foi dividida pelo número de plântulas normais mensuradas, resultando na massa média por plântula.

Para avaliar a variabilidade dos dados, foi realizada, inicialmente, a verificação da normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias.

2.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 × 2, com quatro repetições totalizando 40 ensaios, realizados em dois períodos sequenciais. Os fatores de estudo da pesquisa foram: doses de água residuária de suinocultura equivalentes a 0; 30 e 60 kg N ha⁻¹ e doses de 30 e 60 kg N ha⁻¹ de fertilizante

mineral, com e sem inoculação com *A. brasilense* Para comparação entre testemunha e tratamentos foi realizado o teste de Student-Newman-Keuls, a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O índice de velocidade de emergência (IVE) das sementes de milho variou entre 0,156 e 0,340, sem apresentar diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$), nos dois períodos estudados (Tabela 2).

Tabela 2 Índice de velocidade de germinação e índice de velocidade de emergência de milho com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense*

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	Período 1		Período 2	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
Índice de velocidade de emergência (IVE)				
0	0,210 aA	0,185 aA	0,250 aA	0,290 aA
30 via F.M.	0,210 aA	0,218 aA	0,206 aA	0,260 aA
60 via F.M.	0,213 aA	0,203 aA	0,200 aA	0,230 aA
30 via ARS	0,200 aA	0,213 aA	0,156 aA	0,260 aA
60 via ARS	0,208 aA	0,218 aA	0,156 aA	0,290 aA
Media	0,208		0,246	
CV (%)	9,21		13,92	
Velocidade de emergência (VE)				
0	4,57 aA	4,78 aA	5,22 aA	5,47 aA
30 via F.M.	4,68 aA	4,82 aA	4,15 bA	4,85 bA
60 via F.M.	4,67 aA	4,89 aA	3,97 bA	4,63 bA
30 via ARS	4,25 aA	4,65 aB	5,20 aA	5,40 aA
60 via ARS	4,72 aA	4,60 aA	5,40 aA	5,00 aA
Média	4,66		4,93	
CV (%)	5,33		6,65	

Notas: Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas colunas e letras maiúsculas diferentes nas linhas apresentaram diferença estatística pelo teste de Student-Newman-Keuls, a 5% de probabilidade. ns: Não significativo.

O índice de velocidade de emergência representa o número plântulas emergidas por dia e quanto maior esse número, possivelmente, maior vigor das plântulas (MAGUIRE, 1962). Nesse caso, a ausência de diferença estatística entre os tratamentos é positiva, pois indica que o uso do fertilizante mineral e da água residuária de suinocultura apresentam o mesmo efeito sobre o número de plantas emergidas por dia.

A velocidade de emergência (VE) das plântulas de milho foi maior em todos os tratamentos quando se utilizou o inóculo com *A. brasilense*, com diferença estatística ($p < 0,05$) no Período 2 (Tabela 2). Os tratamentos com adubação mineral, nas doses de 30 e 60 kg ha⁻¹ apresentaram menor VE e diferiram estatisticamente do controle e dos tratamentos com água residuária de suinocultura. A dose de 60 kg ha⁻¹ aplicada via ARS também apresentou redução na VE, quando as sementes foram inoculadas.

A velocidade de emergência representa o número de dias médio necessário para atingir a emergência máxima (EDMOND; DRAPALA, 1958). Quanto maior o tempo para emergência, possivelmente menor vigor das plântulas. Resultados que mostram maior vigor inicial das plântulas de milho indicam que elas são positivamente afetadas pelo tratamento de sementes com o inóculo e o fertilizante mineral.

Em situação de desuniformidade na velocidade de emergência, o desenvolvimento do estande de plantas será afetado negativamente, sendo que as plântulas que emergem primeiro sombrearão as plântulas com emergência mais tardia (MONDO *et al.*, 2012). As plântulas com emergência atrasada podem apresentar menor capacidade de competição por água, luz e nutrientes devido ao menor crescimento da parte aérea e sistema radicular (MEROTTO-JÚNIOR *et al.*, 1999). Nesse caso, o uso de fertilizante mineral apresentou vantagem pelo aumento da velocidade de emergência das plântulas reduzindo, assim, os problemas discutidos anteriormente.

Os tratamentos com *A. brasilense* apresentaram menor comprimento da parte aérea, em relação aos não inoculados (Tabela 3). O tratamento com 60 kg ha⁻¹ aplicado via adubação mineral apresentou redução de 16% no comprimento da parte aérea, quando utilizado o inóculo, diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos.

O comprimento da raiz também foi menor nos tratamentos em que se utilizou o *A. brasilense*, diferindo estatisticamente dos tratamentos sem inóculo ($p < 0,05$). Entre os tratamentos, dentro do fator inoculação, não houve diferença estatística entre o comprimento da raiz em ambos os períodos estudados.

Segundo Arnon (1975), a deficiência de N retarda a divisão celular nos pontos de crescimento do milho, resultando em redução na área foliar e no tamanho da planta, com reflexos negativos sobre a produção. No entanto, não se observou deficiência de N nos tratamentos empregados neste estudo. O que se verificou foi alteração no crescimento das raízes do milho, quando do uso do inóculo. Assim, enquanto os tratamentos sem o inóculo apresentaram crescimento longitudinal, os tratamentos com *A. brasilense* apresentaram crescimento das raízes laterais e aumento do diâmetro das mesmas, o que pode ser confirmado pela não diferença entre as massas secas das raízes (Tabela 4).

Tabela 3 Comprimento da parte aérea e raiz de plantas de milho produzidas com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* aos quinze dias após a semeadura

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	Período 1		Período 2	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
Comprimento da parte aérea (mm)				
0	373 aA	348 aB	366 aA	331 aA
30 via F.M.	358 aA	350 aA	321 aA	326 aA
60 via F.M.	388 aA	325 aB	301 aA	315 aA
30 via ARS	390 aA	347 aB	366 aA	328 aA
60 via ARS	388 aA	368 bB	351 aA	332 aA
Média	363		333	
CV (%)	4,41		11,12	
Comprimento da raiz (mm)				
0	251 aA	176 aB	286 aA	229 aB
30 via F.M.	247 aA	177 aB	243 aA	208 aB
60 via F.M.	282 aA	188 aB	257 aA	204 aB
30 via ARS	274 aA	170 aB	300 aA	225 aB
60 via ARS	281 aA	170 aB	263 aA	219 aB
Média	221		243	
CV (%)	17,45		16,86	

Notas: Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas colunas e letras maiúsculas diferentes nas linhas apresentaram diferença estatística pelo teste de Student-Newman-Keuls, a 5% de probabilidade.

Os tratamentos com adubação mineral apresentaram menores valores de massa seca da parte aérea e raiz, diferindo estatisticamente do controle e dos tratamentos com água residuária de suinocultura.

O uso de *A. brasilense* apresenta efeito no crescimento das raízes com conseqüente melhora na capacidade de assimilação de nutrientes pela planta. O efeito benéfico da associação com *A. brasilense* ocorre devido à soma de múltiplos mecanismos, pois as bactérias do gênero *Azospirillum* podem produzir fitormônios (tais como giberelinas, ácido indolacético e etileno). Além disso, fixam nitrogênio em associação com plantas, por apresentarem metabolismo de nitrogênio bastante versátil. Já que as bactérias podem se multiplicar em diversas fontes de N tais como: amônio, nitrato, nitrito, aminoácidos e nitrogênio atmosférico. Porém, a transferência de nitrogênio fixado para a planta associada parece ser limitada e nem sempre é detectada (HUERGO, 2006). Nesse experimento, no desenvolvimento inicial até quinze dias após a semeadura, não foi possível detectar aumento no crescimento radicular promovido pelo *A. brasilense*, como seria esperado.

Tabela 4 Massa seca da parte aérea e raiz de plantas de milho produzidas a com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* aos quinze dias após a semeadura

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	Período 1		Período 2	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
Massa seca da parte aérea (g)				
0	1,74 bA	1,32 aA	1,84 aA	1,54 aA
30 via F.M.	1,70 bA	1,62 aA	1,48 abA	1,24 aA
60 via F.M.	1,28 aA	1,37 aA	1,26 aA	1,46 aA
30 via ARS	1,98 cA	1,73 aA	2,02 aA	1,58 aB
60 via ARS	1,40 bA	1,68 aA	1,56 aA	1,42 aA
Média	1,58		1,56	
CV (%)	20,51		15,66	
Massa seca da raiz (g)				
0	1,72 bA	1,31 aB	1,22 bA	1,36 aA
30 via F.M.	1,51 aA	1,51 aA	1,52 bA	1,28 aA
60 via F.M.	1,89 bA	1,35 aB	1,05 aA	1,18 aA
30 via ARS	1,65 abA	1,68 bA	1,50 bA	1,22 aA
60 via ARS	1,62 abA	1,70 bA	1,74 cA	1,44 aA
Média	1,59		1,44	
CV (%)	11,37		21,27	

Notas: Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas colunas e letras maiúsculas diferentes nas linhas apresentaram diferença estatística pelo teste de Student-Newman-Keuls, a 5% de probabilidade.

De acordo com Mondo *et al.* (2012), o aumento na matéria seca é refletida na produtividade da planta. Assim, plantas com maior crescimento inicial e acúmulo de massa seca podem utilizar melhor a radiação solar, logo no início do ciclo, o que pode aumentar a disponibilidade de hidratos de carbono para melhor vigor das plantas. Essa afirmação é apoiada no fato de que o milho é uma espécie com metabolismo C₄, o que tende a expressar melhor seu potencial genético pelo uso eficiente da radiação solar. Portanto, aumentar e/ou estimular o crescimento de plantas resulta em melhor eficiência fotossintética. Do mesmo modo, o bom desenvolvimento inicial da raiz melhora o rendimento do sistema devido ao maior volume de solo que elas exploram. Isso permite que as plantas tolerem melhor o estresse hídrico e facilita o aumento da capacidade de absorção de nutrientes. O aumento direto desse mecanismo faz com que ocorra maior absorção de nutrientes pela interceptação da raiz, fluxo de massa e difusão (MELO; BALDOTTO; BALDOTTO, 2015).

Okon e Vanderleyden (1997), baseando-se em dados acumulados durante 22 anos de pesquisa com experimentos de inoculação a campo, concluíram que o gênero *Azospirillum* spp. promove ganhos em rendimento, em importantes culturas e nas mais

variadas condições de clima e solo. Contudo, os autores salientaram que o ganho com *Azospirillum* spp. vai mais além do que simples auxiliar na fixação biológica do nitrogênio, auxiliando também no aumento da superfície de absorção das raízes da planta e, conseqüentemente, no aumento do volume de substrato do solo explorado. Tal constatação é justificada pelo fato de a inoculação modificar a morfologia do sistema radicular, aumentando não apenas o número de radículas, mas, também, o diâmetro das raízes laterais e adventícias. Pelo menos parte, ou talvez muitos desses efeitos de *Azospirillum* spp. nas plantas, possam ser atribuídos à produção, pela bactéria, de substâncias promotoras de crescimento, entre elas as auxinas, giberelinas e citocininas e não somente a fixação biológica de nitrogênio.

Outras pesquisas utilizando *A. brasilense* poderiam incidir sobre o esclarecimento das complexas interações entre a rizosfera e os diferentes sistemas de cultivo, visando ampliar as opções para sustentabilidade. Esse conhecimento pode contribuir com novas ideias a respeito dos parâmetros que poderiam ser melhorados para tornar mais eficiente a promoção de crescimento de plantas e os inoculantes serem mais utilizados em benefício da agricultura (FIBACH-PALDI; BURDMAN; OKON, 2012).

Os resultados deste estudo indicam que novas práticas de manejo tecnológicas podem ser desenvolvidas com base no estímulo do crescimento das plantas e, possivelmente, no aumento da produtividade do milho.

4 CONCLUSÃO

Nas condições em que o experimento foi realizado, pode-se concluir que a inoculação com *Azospirillum brasilense* promoveu o crescimento das raízes laterais e encurtamento das raízes principais das plântulas de milho.

REFERÊNCIAS

AMARAL FILHO, J.P.R.; FORNASIERI FILHO, D.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J.C. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, n.3, p.467-473, 2005.

ARAÚJO, E. O.; VITORINO, A. C. T.; MERCANTE, F. M.; NUNES, D. P.; SCALON, S. P. Q. Qualidade de sementes de milho em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com bactérias diazotróficas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Botucatu, v. 9, n. 2, 2014, p. 159-165.

ARNON, I. **Mineral nutrition of maize**. Bern: International Potash Institute, 1975.

BARTCHECHEN, A.; FIORI, C. C. L.; WATANABE, S. H.; GUARIDO, R. C. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* na produtividade da cultura do milho (*Zea mays* L.) - **Campo Digit@I**, Campo Mourão, v. 5, n. 1, p. 56-59, 2010.

BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent progress and perspectives for the future. **Fertilizer Research**, Oxford, v. 42, n. 2, p. 241-250, 1995.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van; CAMARGO, C.E.O. Adubação de cereais. In: RAIJ, B. van.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônômico, 1997. p.43-50. (IAC. Boletim técnico, 100).

COELHO, A. M. **Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007. (Circular técnica, 96).

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E. de. Seja o doutor do seu milho: nutrição e adubação. 2 ed. **Informações Agrônômicas**, Piracicaba, n. 71, p. 1-9, 1995. Arquivo do Agrônomo, Piracicaba, n. 2, 1995. Encarte.

DESAI, B. B.; KOTTECHA, P.M.; SALUNKE, D.K. **Seeds handbook**: biology, production, processing and storage. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 2004. 787p.

DOTTO, A.P.; LANA, M.C.; STEINER, F.; FRANDOLOSO, J.F. Maize yield in response to *Herbaspirillum seropedicae* inoculation under different nitrogen levels. **Brazilian Journal of Agricultural Research**, Brasília, v. 5, n. 3, p. 376-382, 2010.

EDMOND, J. B.; DRAPALA, W. J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. **Proceedings of the American Society Horticultural Science**, Alexandria, n. 71, n. 3, p. 428-434, 1958.

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

FARINELLI, R.; LEMOS, L.B. Nitrogênio em cobertura na cultura do milho em preparo convencional e plantio direto consolidados. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.42, n.1, p. 63-70, 2012.

FIBACH-PALDI, S.; BURDMAN, S.; OKON, Y. Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. **Fems. Microbiol. Lett.**, Delftechpark, v. 326, p. 99-108, 2012.

HAN, J.; SUN, L.; DONG, X.; CAI, Z.; YANG, H.; WANG, Y.; SONG, W. Characterization of a novel plant growth promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various pathogens. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 28, p. 66-76, 2005.

HUERGO, L. F. **Regulação do metabolismo de nitrogênio em *Azospirillum brasilense***. 2006. 187 f. Tese (Doutorado em Ciências – Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

KUPPUSAMY, S.; KRISHNAN, P. S.; KUMUTHA, K.; FRENCH, J.; CARLOS, G. E.; LAI, W. A.; REKHA, P. D.; ARUN, A. B.; YOUNG, C. C. Suitability of UK and indian source acacia wood based biochar as a best carrier material for the preparation of *Azospirillum* inoculum. **International Journal of Biotechnology**, Bielefeld, v. 4 n. 6, p. 582-588. 2011.

LAI, W. A.; REKHA, P. D.; ARUN, A. B.; YOUNG, C. C. Effect of mineral fertilizer, pig manure, and *Azospirillum rugosum* on growth and nutrient contents of *Lactuca sativa* L. **Biological Fertilizer Soils**, Taichung, v. 45, n. 2, p. 155-164, 2008.

MAGUIRE, J. D. Seeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MARINI, D.; GUIMARÃES, V.F.; DARTORA, J.; LANA, M.C.; PINTO JÚNIOR, A.S. Growth and yield of corn hybrids in response to association with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n. 1, 2015.

MARQUES JÚNIOR, R. B., CANELLAS, L. P., SILVA, L. G., OLIVARES, F. L. Promoção de enraizamento de microtoletes de cana-de-açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 1121-1128, 2008.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic, 1995. 889 p.

MELO, R. O.; BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. Corn initial vigor in response to humic acids from bovine manure and poultry litter. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 3, Suplemento 1, p. 1863-1874, 2015.

MEROTTO-JÚNIOR, A.; SANGOI, L.; ENDER, M.; GUIDOLIN, A.F.; HAVERROTH, H.S. A desuniformidade de emergência reduz o rendimento de grãos de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 4, p. 595-601, 1999.

MONDO, V. H. V.; CICERO, S. M.; DOURADO-NETO, D.; PUPIM, T. L.; DIAS, M. A. N. Vigor de sementes e desempenho de plantas de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 34, n. 1. p. 143-155, 2012.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. *In*: KRZYZANOSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-2.24.

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

PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Disponibilidade de nutrientes no solo - decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 911-920, 2008.

PENHA, H. G. V.; MENEZES, J. F. S.; SILVA, C. A., LOPES, G.; CARVALHO, C. A.; RAMOS, S. J.; GUILHERME, L. R. G. Nutrient accumulation and availability and crop yields

following long-term application of pig slurry in a Brazilian Cerrado soil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Ithaca, v. 101, n. 2, p. 259-269. 2015.

RODRIGUEZ, H., FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advanced**, Rehovot, v. 17, n. 3, p. 319-339, 1999.

SOUZA, F. S.; FARINELLI, R.; ROSOLEM, C. A. Desenvolvimento radicular do algodoeiro em resposta à localização do fertilizante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 31, p. 387-392, 2007.

TAVARES, L.C.; TUNES, L.M.; BRUNES, A.P.; FONSECA, D.A.R.; RUFINO, C.A.; BARROS, A.C.S.A. Potássio via recobrimento de sementes de soja: efeitos na qualidade fisiológica e no rendimento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 7, p. 1196-1202, 2013.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. World agricultural supply and demand estimates. **United States Department of Agriculture**, v. 1, n. 549. 2016. 40 p. Disponível em: <http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2016.

ARTIGO 2 - COMPONENTES DE RENDIMENTO DE MILHO INOCULADO COM *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* E FERTILIZADO COM ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA

RESUMO

O rendimento de milho pode ser afetado pela fonte de nitrogênio utilizada durante o cultivo, que podem ser bactérias diazotróficas e água residuária de suinocultura. O estudo foi desenvolvido em campo experimental durante dois anos consecutivos, com o objetivo de avaliar os efeitos do inóculo de *Azospirillum brasilense* associado a taxas de água residuária de suinocultura sobre os componentes de rendimento do milho de segunda safra. Três taxas de aplicação de biofertilizante foram utilizadas (correspondentes a 0; 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, respectivamente) e a fertilização mineral nas mesmas doses, com e sem inóculo, totalizando dez tratamentos, com quatro repetições cada. O estande inicial e final de plantas, índice de clorofila (SPAD), espigas por metro, número de grãos por espiga, comprimento e massa da ráquis, e a eficiência agrônômica do uso de N foram avaliados. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan, a 0,05 de probabilidade. A interação entre o biofertilizante e *A. brasilense* aumentou todos os componentes de rendimento avaliados, exceto o número de espigas por planta e a população de plantas. No entanto, os resultados mais expressivos foram com a dose de 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, tanto para o fertilizante mineral quanto o biofertilizante de suinocultura, nas duas safras estudadas. Assim, o uso de biofertilizante de suinocultura associado ao uso de *A. brasilense* surge como alternativa como redução dos custos de produção de milho.

Palavras-chave: fontes alternativas de N, fixação biológica de nitrogênio, *Zea mays* (L.)

**PAPER 2: YIELD COMPONENTS OF MAIZE CROP INOCULATED WITH *AZOSPIRILLUM*
BRASILENSE AND SWINE WASTEWATER AS BIOFERTILIZER**

ABSTRACT

The corn yield can be affected by nitrogen source used during cropping. As nitrogen source can be used by nitrogen-fixing bacteria (diazotrophic) and swine wastewater. The experiment was carried out in an experimental area for two consecutive years, in order to evaluate the effects of *A. brasilense* inoculum associated with swine wastewater rates on the yield components of corn. Three bio-fertilizer application rates were used (corresponding to 0, 30 and 60 kg ha⁻¹ nitrogen doses, respectively) and mineral fertilization at the same doses, with and without inoculum, resulting on ten treatments with four replications each. The initial and final plant population, chlorophyll content (SPAD), grain weight per ear, ears per meter and number of grains per ear, length and weight of rachis and agronomic efficiency of N use were evaluated. Data were submitted to analysis of variance and averages were compared by Duncan test at 0.05 probability. The interaction between bio-fertilizer and *A. brasilense* increased all yield components evaluated, except ear number per plant and plant population. However, the most significant results were with 60-kg ha⁻¹ dose of nitrogen for both mineral fertilizer and swine biofertilizer in both studied cropping seasons. Thus, the use of swine biofertilizers associated with *A. brasilense* use is an alternative to reduce corn production costs.

Keywords: alternative sources of N, biological nitrogen fixation, *Zea mays* (L.).

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma das plantas cultivadas de maior importância para o mundo, sendo objeto de estudos que têm permitido seu cultivo em todos os continentes. Na agricultura brasileira, apresenta extensa cadeia produtiva tanto do ponto de vista econômico como agrônomo, compondo o sistema de rotação de cultura (BONO *et al.*, 2008).

Assim, a identificação dos atributos da planta, que são os responsáveis pelo seu maior rendimento é essencial; a produção de grãos por planta é o mais importante e complexo desses atributos. Por isso, as melhores técnicas de manejo devem ser disponibilizadas para aumentar a produtividade e melhorar a situação econômica do produtor de milho (YADAV; YADAV; SHING, 2011).

Outra atividade agrícola que possui grande demanda é a suinocultura, que tem aumentado nos mercados interno e externo exigindo-se aumento de produção. Isso acarreta um aumento de resíduos gerados pela agroindústria suinícola. O dejetos suíno tratado pode servir como fertilizante para plantas de culturas anuais, usando o solo como meio de reciclagem de nutrientes, desde que feito de maneira adequada (PRIOR *et al.*, 2013).

Para suprir a demanda das plantas por nutrientes, as taxas de aplicação de águas residuárias devem ser determinadas, seguindo-se os mesmos níveis da fertilização mineral para boa produção agrícola, de acordo com as respectivas recomendações nutricionais (BUCKLEY; MOHR; THERRIEN, 2010). O uso agrícola da água residuária de suinocultura deve ser monitorado para que os atributos que caracterizam o seu valor fertilizante para as plantas não acarretem contaminação ambiental (CAVALLET *et al.*, 2006). A concentração de nutrientes na água residuária de suinocultura é variável, conforme a condição do local de coleta, e deve ser determinada antes da aplicação no solo para se dimensionar a taxa de aplicação. Em média, cada metro cúbico de esterco suíno líquido contém 2,8 kg de N, 2,4 kg de P₂O₅, 1,5 kg de K₂O₅ e 3% de matéria orgânica (SBCS, 2004).

A aplicação de dejetos de suínos (não tratado, resultante de lagoa de estabilização por 120 dias ou como efluente de biodigestor) promoveu aumento na produção de biomassa seca e na concentração de nutrientes no milho, menos para o cálcio (FEY *et al.*, 2010). No entanto, quando o milho é fertilizado com dejetos suíno é complementado com adubação mineral de fósforo e potássio, excede as necessidades das plantas e ocorre a acumulação no solo (CELA *et al.*, 2010).

O uso da água residuária é justificado pela economia com o uso de fertilizantes minerais, pois em cultivos como trigo, milho e arroz, a adubação nitrogenada representa a

parte dos custos mais elevada do processo produtivo e consomem, aproximadamente, 60% do total de fertilizantes nitrogenados do mundo (ESPÍNDULA *et al.*, 2014).

O aumento do custo dos adubos nitrogenados e a preocupação cada vez maior com possíveis efeitos negativos do excesso de nitrato nos mananciais são fatores que devem ser considerados para o incentivo ao estudo do processo natural de fixação biológica do nitrogênio (FBN) (CANTARELLA; DUARTE, 2004). Esse processo é realizado por microrganismos chamados diazotróficos (bactérias e cianobactérias fixadoras de nitrogênio).

As bactérias diazotróficas correspondem a um grupo de microrganismos benéficos às plantas, devido à capacidade de colonizar a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas (DAVISON, 1988; KLOPPER *et al.*, 1989).

Segundo Lai *et al.* (2008), determinar o melhor ajuste entre as bactérias inoculadas, diferentes fertilizantes e seus efeitos sobre a resposta da planta é importante para avaliar a eficiência das bactérias diazotróficas e recomendar sua utilização mais viável.

A fixação de nitrogênio na planta, durante a associação planta-bactérias, é um processo em que as bactérias apenas fornecem o nitrogênio fixado se fontes de carbono e energia estão suficientemente disponíveis (CHUBATSU *et al.*, 2012).

A presença de ácidos húmicos (AH), gerados pela decomposição de matéria orgânica pode aumentar a eficiência da infecção das bactérias nas plantas. Assim, em sistema plantio direto ou quando se utilizam águas residuárias que contém matéria orgânica, esse processo é facilitado pela grande quantidade de húmus no solo. Segundo Marques Júnior (2006), os AH estimulam o aumento de raízes laterais e sítios mitóticos, aumentando os pontos de infecção para as bactérias diazotróficas endofíticas.

Os ganhos com a utilização do *A. brasilense* vão além da fixação de nitrogênio atmosférico e aumento do índice de clorofila, proporcionam, também, aumento da superfície de absorção das raízes da planta e, conseqüentemente, aumento do volume de exploração de nutrientes no solo, o que torna o uso dos nutrientes pela planta mais eficiente (NUNES *et al.*, 2016).

A inoculação de *A. brasilense* em milho pode estimular o desenvolvimento de plantas no período vegetativo, aumentando a probabilidade de se obter população de plantas uniforme, maior resistência ao estresse hídrico e maior índice de clorofila nas folhas. Quadros *et al.* (2014) estudaram três híbridos de milho e verificaram que todos responderam de forma diferente à inoculação de *A. brasilense*, sugerindo que o genótipo da planta desempenha papel importante na colonização pelas bactérias, o que deve estar relacionado com a relação rizosfera/bactéria. A atividade benéfica dessas bactérias é muito estudada; porém, sua interação com práticas de manejo ainda necessita de mais pesquisa, em

diferentes regiões edafoclimáticas, visto que, alterando-se o tipo de solo ou o clima, alteram-se também os fatores que afetam a relação planta/bactéria.

A dose de nitrogênio aplicada deve ser criteriosa pois a eficiência da fixação biológica em bactérias diazotróficas, como o *A. brasilense*, é rapidamente reduzida ou até mesmo inibida na presença de níveis elevados de amônia no solo, o que pode causar a inibição rápida da atividade de nitrogenase, responsável pela conversão do N atmosférico (N₂), uma forma mais aceita de nitrogênio pela planta (PANKIEVCZ *et al.*, 2016).

O rendimento de grãos de milho apresenta três componentes que mais interferem na produtividade: número de espigas por planta, número de grãos por espiga e massa de grãos. A definição desses componentes é determinada pelas condições em cada estágio de desenvolvimento da planta de milho (YOSEFI *et al.*, 2011). A avaliação dos componentes do rendimento de grãos de milho permite obter um indicativo da disponibilidade de N durante o seu ciclo de desenvolvimento (BEYRANVAND *et al.*, 2013).

Nesse sentido, estabeleceu-se como objetivo deste trabalho avaliar o efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* e fertilização com água residuária de suinocultura e adubação mineral nas doses de 0, 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, sobre os seguintes componentes de rendimento do milho: população de plantas, índice de clorofila, número de espigas, número de grãos por espiga, massa da ráquis, comprimento da espiga, e eficiência agrônômica de uso do nitrogênio pelo milho, nos anos agrícolas de 2014 e 2015.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização do experimento

O experimento foi conduzido nos anos agrícolas 2014 e 2015, em condições de campo, em área experimental localizada no município de Cascavel, Estado do Paraná, pertencente à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, apresentando como coordenadas geográficas 24°48' de latitude sul e 53°26' de longitude oeste, altitude média de 760 m.

O clima da região, de acordo com a classificação de Köppen, é do tipo Cfc, subtropical, mesotérmico e superúmido, com precipitação média anual de 1800 mm, verões quentes, com tendência de concentrações de chuvas, sem estação seca definida e geadas

pouco frequentes. A temperatura média anual é em torno de 25°C e a umidade relativa do ar média é de 75% (IAPAR, 1998).

O solo da área experimental é classificado como LATOSSOLO VERMELHO Distroférico típico (EMBRAPA, 2013), substrato basalto e relevo suave ondulado. Antes da instalação do experimento, amostras de solo foram coletadas para análise química de rotina, na profundidade de 0 a 0,20 m, segundo Rajj (1997). A análise do solo, realizada em dezembro de 2013, apresentou 655 g kg⁻¹ de argila; 44,12 g dm⁻³ de matéria orgânica; pH (H₂O) 5,8; 7,83 mg dm⁻³ de P disponível; 0,33 cmol_c kg⁻¹ de K⁺; 6,06 cmol_c kg⁻¹ de Ca²⁺; 3,74 cmol_c kg⁻¹ de Mg²⁺; 4,85 cmol_c kg⁻¹ de H⁺Al³⁺ e CTC de 14,18 cmol_c kg⁻¹. A área experimental é cultivada em sistema de semeadura direta há mais de 20 anos, utilizando cultivos com soja (*Glycine max* L.), milho (*Zea mays* L.), aveia-preta (*Avena strigosa*), nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) e azevém (*Lolium multiflorum* L.).

As médias mensais de temperatura máxima e mínima (°C) e precipitação pluviométrica acumulada (mm) durante o período experimental estão apresentadas na Figura 1.

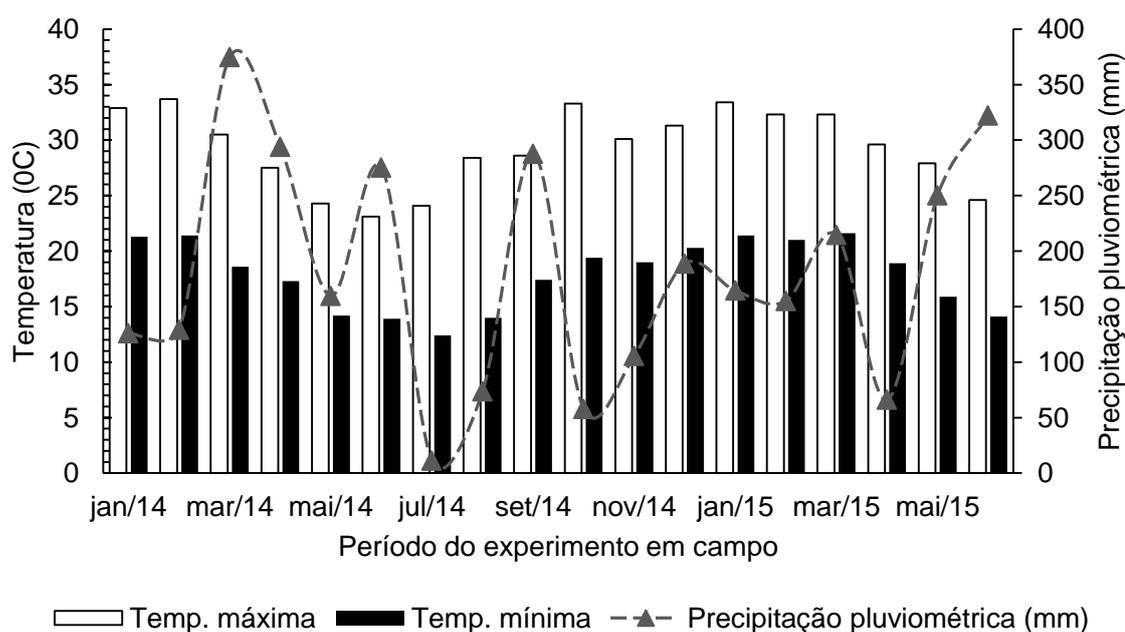


Figura 1 Médias mensais de temperatura máxima e mínima (°C) e precipitação pluviométrica acumulada (mm) durante o período experimental. Fonte: Simepar (2015).

O delineamento estatístico foi realizado em parcelas subdivididas com a subparcela disposta em faixas, com quatro repetições cada. Três taxas de aplicação do biofertilizante foram utilizadas (correspondentes às doses de 0; 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio,

respectivamente) e a fertilização mineral nas mesmas doses, com e sem inóculo, totalizando dez tratamentos, com quatro repetições cada. Os dados foram submetidos a testes de normalidade e análise de variância, utilizando-se o *software* Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2011). As médias foram comparadas pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. O teste de Duncan foi escolhido por que faz o agrupamento de dados semelhantes entre si e, assim, consegue-se verificar a igualdade/diferença entre as doses e fontes de nitrogênio testadas.

2.2 Inoculação e aplicação dos tratamentos

A inoculação das sementes (sem tratamento com agroquímicos) foi realizada em um recipiente desinfetado, duas horas antes da semeadura. As estirpes de *Azospirillum brasilense* utilizadas foram AbV-5 e AbV-6, cedidas pela Nitro1000[®], na dose de 100 mL para 60.000 sementes, na concentração de $2,0 \times 10^8$ ufc mL⁻¹.

A variedade de milho utilizada nos dois anos de experimento foi a IPR 114, cedida pelo Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR. As semeaduras foram realizadas nos dias 08/01/2014 e 26/11/2014, com auxílio de semeadora manual, primeiramente com as sementes sem inóculo nas linhas demarcadas, sob sistema plantio direto, com espaçamento entre as linhas de semeadura de 0,8 m, cinco plantas por metro, com estande final de 62.500 plantas ha⁻¹. As parcelas de quatro linhas de 3,0 m foram demarcadas com espaçamento de 2,0 m entre parcelas.

A água residuária de suinocultura foi tratada em biodigestor, seguido de tanque de sedimentação (decantador) e lagoa facultativa, no município de Toledo - PR, nos dois anos de cultivo.

Cada parcela teve seu respectivo tratamento, com quatro repetições, totalizando 40 parcelas em faixas. A água residuária foi coletada para caracterização química 24 h antes da aplicação (Tabela 1).

O equivalente em N total de Kjeldhal foi aplicado via água residuária de suinocultura, para perfazer as quantidades de 30 e 60 kg ha⁻¹ de N, conforme recomendado para adubação de semeadura para o milho com alto rendimento por Fancelli e Dourado Neto (2000).

Na adubação de semeadura foram aplicados 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ via superfosfato triplo (42% de P₂O₅) e 50 kg ha⁻¹ de K₂O via cloreto de potássio (58% de K₂O). Nos tratamentos com adubação mineral nas doses de 30 e 60 kg ha⁻¹ de N, foi utilizada ureia (45% de N).

Tabela 1 Características físico-químicas da água residuária de suinocultura, obtidas antes de cada aplicação, em janeiro e novembro de 2014

Parâmetro (mg L ⁻¹)	Janeiro	Novembro	Determinação
N _{total}	1.867,2	1.386,4	Micro-Kjeldahl ¹
Fósforo total	125,4	119,8	Espectrofotômetro visível
Potássio	575,4	484,7	EAA ²
Sódio	153,6	163,0	EAA
Cálcio	51,4	39,2	EAA
Magnésio	31,6	28,2	EAA
Cobre	0,91	0,69	EAA
Zinco	4,13	3,15	EAA
Ferro	4,09	2,79	EAA
Manganês	0,38	0,24	EAA
Cond. elétrica (µS cm ⁻¹)	1963,9	1682,7	Condutivímetro
pH	8,1	7,8	pHmetro
Densidade (g cm ⁻³)	1,003	1,004	Gravimetria

Notas: ¹ Bremner e Mulvaney (1965); ²EAA = Espectrofotômetro de absorção atômica.

A fonte de N utilizada para os tratamentos com adubação mineral foi fertilizante 33-0-0, resultante da mistura de ureia e sulfato de amônio. Os tratamentos foram de 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio na semeadura. Estas são as doses médias utilizadas no Brasil (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000; AMARAL FILHO *et al.*, 2005; CANTARELLA *et al.*, 1997; COELHO, 2007; FARINELLI; LEMOS, 2012. PAVINATO *et al.*, 2008, SOUZA *et al.*, 2007).

2.3 Determinação dos componentes de rendimento

A população inicial foi determinada contando-se o número total de plantas presentes, aos 14 dias após a semeadura, quando as plantas estavam entre os estádios V1 e V2 (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 1993), em três linhas de três metros cada. Na véspera de colheita, a população final de plantas foi determinada da mesma maneira que a inicial. Os resultados foram expressos em plantas por metro.

O índice de clorofila (SPAD) foi determinado utilizando-se o clorofilômetro Minolta-502 da Konica®. As leituras de SPAD foram realizadas em dez plantas aleatórias de cada parcela, na folha oposta e abaixo à espiga, quando as plantas apresentaram a inflorescência feminina.

A colheita foi realizada manualmente aos 188 e 181 dias após a semeadura, respectivamente nos anos de 2014 e 2015. No momento da colheita, o teor de água das

sementes estava entre 18 e 25%. Todas as espigas de todas as plantas de cada parcela foram colhidas e colocadas em sacos de papel identificados.

As espigas com palha foram colocadas em estufa a 40 °C por 24 h para secagem. As sementes de milho de dez espigas de cada parcela foram contadas para determinação do número de sementes por espiga.

O número de espigas por metro foi determinado dividindo-se a quantidade de espigas de cada parcela por 9,9 m (total das três linhas de 3,3 m de cada parcela).

A debulha e limpeza foram realizadas manualmente. Posteriormente, as espigas foram contadas, pesadas e o comprimento foi medido com paquímetro digital de precisão 0,01 cm. Após a debulha, as ráquis foram pesadas para a determinação da massa da ráquis.

A eficiência agrônômica de uso do N foi determinada, segundo Fageria e Baligar (2005), pela Equação 1:

$$EA = \frac{PG_{cf} - PG_{sf}}{Q_{Na}} \text{ (kg kg}^{-1}\text{)} \quad (1)$$

Em que:

EA = eficiência agrônômica;

PG_{cf} = produção de grãos com fertilizante nitrogenado;

PG_{sf}, = produção de grãos sem fertilizante nitrogenado; e

Q_{Na} = quantidade em kg de N aplicado.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A população inicial de plantas, verificada aos 14 dias após a semeadura, não apresentou diferença estatística entre os tratamentos, nos dois anos de cultivo analisados (Tabela 2). O mesmo foi verificado na véspera da colheita, em que a população final de plantas não apresentou diferença estatística significativa, a 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan. Entretanto, observa-se que a população de plantas foi reduzida ao final do ciclo, fato atribuído ao acamamento das plantas decorrente dos ventos e chuvas na área experimental nos meses que antecedeu à colheita (julho de 2014 e maio de 2015).

Tabela 2 População inicial e final de plantas de milho de segunda safra (plantas m⁻¹) produzidas com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense*

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
População inicial (plantas m ⁻¹)				
0	3,6 aA	4,5 aA	4,4 aA	4,5 aA
30 via F.M.	3,6 aA	4,5 aA	4,2 aA	4,4 aA
60 via F.M.	4,3 aA	4,5 aA	4,6 aA	4,3 aA
30 via ARS	4,1 aA	4,3 aA	4,1 aA	4,6 aA
60 via ARS	3,6 aA	4,3 aA	4,5 aA	4,9 aA
Média	3,8	4,4	4,4	4,5
CV (%)	⁽¹⁾ 13,49	⁽²⁾ 4,08	⁽¹⁾ 11,87	⁽²⁾ 4,66
População final (plantas m ⁻¹)				
0	2,8 aA	2,9 aA	2,8 aA	3,6 aA
30 via F.M.	2,9 aA	3,2 aA	2,6 aA	3,0 aA
60 via F.M.	3,3 aA	2,8 aA	3,3 aA	3,2 aA
30 via ARS	2,4 aA	3,3 aA	3,0 aA	3,3 aA
60 via ARS	3,2 aA	3,3 aA	3,5 aA	3,3 aA
Média	2,9	3,1	3,0	3,3
CV (%)	⁽¹⁾ 17,74	⁽²⁾ 13,39	⁽¹⁾ 15,63	⁽²⁾ 11,86

Notas: Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas em cada ano, apresentaram diferença estatística pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, para cada ano de cultivo. CV (%) ⁽¹⁾ corresponde ao coeficiente de variação total. CV (%) ⁽²⁾ corresponde ao coeficiente de variação da inoculação.

Quando o estudo é conduzido dentro de uma população de plantas, esse passa a ser diferente da análise de plantas de forma isolada, em vasos, onde as plantas estão livres do efeito de competição (ALMEIDA; MUNDSTOCK, 2001). De acordo com Harper (1977), um indivíduo em uma população sofre efeitos de restrição sobre a taxa de crescimento em função da presença e arranjo dos vizinhos na população de plantas. Esse efeito não foi observado neste estudo, justificado pela semelhança estatística que os tratamentos apresentaram na população inicial de plantas, ou seja, houve redução da população de plantas mas de forma geral em toda a área experimental.

A inoculação via foliar da bactéria *A. brasilense* em milho proporcionou maior população final de plantas, em estudos realizados por Portugal *et al.* (2012). Os dados obtidos discordam dos valores encontrados por Novakowski *et al.* (2011), que obtiveram população de plantas de milho inferiores, quando se fez a inoculação com *A. brasilense*, tanto em aplicação foliar quanto na inoculação das sementes. No presente estudo, referente à inoculação das sementes, as doses de N aplicadas, tanto com fertilizante mineral quanto com água residuária de suinocultura não apresentaram influência sobre a população final de plantas.

As médias de leitura de clorofila (SPAD) apresentaram diferença estatística entre os tratamentos com e sem o inóculo com *A. brasilense* nos dois períodos avaliados (Tabela 3). As maiores médias foram observadas nos tratamentos com inoculação. No entanto, os tratamentos com água residuária de suinocultura na dose de 60 kg ha⁻¹ não apresentaram diferença significativa entre o uso ou não do inóculo. O maior aporte de nitrogênio aplicado no solo somado ao N fixado pelas bactérias pode ter colaborado com o maior índice de clorofila observado.

Tabela 3 Índice de clorofila (SPAD) das folhas de milho com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS) ou fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois anos de observação

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
0	27,74 aA	33,76 aB	34,92 aA	41,93 aB
30 via F.M.	26,56 aA	32,94 aB	29,58 aA	36,91 aB
60 via F.M.	29,42 aA	37,39 aB	35,99 aA	34,50 aA
30 via ARS	22,98 aA	30,95 aB	30,02 aA	33,43 aB
60 via ARS	29,74 aA	30,49 aA	37,01 aA	36,02 aA
Média	27,08	33,21	33,50	36,56
CV (%)	⁽¹⁾ 24,29	⁽²⁾ 16,48	⁽¹⁾ 7,69	⁽²⁾ 5,73

Notas: Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas em cada ano, apresentaram diferença estatística pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, para cada ano de cultivo. CV (%) ⁽¹⁾ corresponde ao coeficiente de variação total. CV (%) ⁽²⁾ corresponde ao coeficiente de variação da inoculação.

No cultivo do milho, conforme se aumentam as doses de nitrogênio, ocorre o aumento do índice de clorofila, comportamento observado por Argenta (2003), Jakelaitis *et al.* (2005) e Jordão *et al.* (2010). Os autores explicam que a relação entre o teor de nitrogênio e a leitura do índice SPAD é atribuída ao fato de mais de 50% do nitrogênio total da folhas serem integrantes de compostos do cloroplasto e da clorofila das folhas (CHAPMAN; BARRETO, 1997). A clorofila é importante parâmetro de absorção de nitrogênio, pois a sua molécula apresenta quatro átomos de nitrogênio no núcleo central, onde ocorre a absorção de radiação solar (TAIZ; ZEIGER, 2013). Plantas com nutrição adequada de nitrogênio nas folhas têm maior capacidade de assimilar o CO₂ atmosférico e sintetizar carboidratos durante a fotossíntese (FERREIRA, 1997), resultando em maior acúmulo de biomassa e rendimento de grãos (JORDÃO *et al.*, 2010).

Quadros *et al.* (2014) também observaram efeito positivo do índice SPAD na inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. Os autores descrevem que a média da leitura do índice SPAD nos tratamentos com a presença da bactéria foi maior que a

média dos tratamentos onde não houve inoculação, comprovando a eficiência desse micro-organismo em fixar nitrogênio.

O índice SPAD considerado ideal é de 58 no clorofilômetro durante o espigamento, para que o rendimento do milho seja elevado (ARGENTA *et al.*, 2003). Nenhum dos tratamentos, em nenhum dos períodos avaliados, neste estudo, apresentou o índice SPAD considerado ideal pelos autores acima. Esse efeito também foi verificado por Mota *et al.* (2015), os quais explicaram que a ausência de efeito da fonte de nitrogênio utilizada sobre o índice de clorofila no milho indica que as quantidades de N absorvidas pela planta, até o espigamento, foram semelhantes para as fontes testadas.

O número de espigas de milho foi estatisticamente semelhante entre os tratamentos nos dois anos de cultivo avaliados (Tabela 4). A relação entre o número de espigas produzidas e a população final de plantas apresentou média de 1,7 espigas por planta, ou seja, este valor (> 1) seria aceitável para o milho, no mínimo, quando destinado para silagem e fins mais nobres (LENTZ *et al.*, 2015).

O número de grãos por espiga foi maior quanto maior a quantidade de nitrogênio aplicada (Tabela 5). Os tratamentos com a dose de 60 kg ha⁻¹ de N apresentaram maior número de grãos por espiga nos dois anos de cultivo avaliados, tanto para a adubação mineral quanto via água residuária de suinocultura, sem inoculação com *A. brasilense*. Para os tratamentos com inoculação, houve diferença estatística com destaque da maior dose no ano de 2014. No ano de 2015, o maior número de grãos por espigas foi apresentado pelo tratamento controle com inoculação. Em ambos os anos de cultivo avaliados os tratamentos com inoculação apresentaram maior número de grãos por espiga, com aumento médio de 48 e 38%, respectivamente, para os anos de 2014 e 2015.

Tabela 4 Número de espigas de milho (espigas m⁻¹) produzidas com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois anos de observação

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
0	5,7 aA	5,6 aA	5,0 aA	5,1 aA
30 via F.M.	5,2 aA	4,3 aA	5,1 aA	5,3 aA
60 via F.M.	5,4 aA	5,4 aA	5,4 aA	5,0 aA
30 via ARS	4,7 aA	5,1 aA	4,6 aA	5,4 aA
60 via ARS	4,6 aA	5,0 aA	5,3 aA	5,4 aA
Média	5,3	5,1	5,1	5,2
CV (%)	⁽¹⁾ 26,37	⁽²⁾ 14,68	⁽¹⁾ 19,60	⁽²⁾ 16,58

Notas: Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas em cada ano, apresentaram diferença estatística pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, para cada ano de cultivo. CV (%) ⁽¹⁾ corresponde ao coeficiente de variação total. CV (%) ⁽²⁾ corresponde ao coeficiente de variação da inoculação.

Tabela 5 Número de grãos por espiga de milho com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS) ou fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois anos de observação

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
0	59 aA	146 aB	129 aA	214 aB
30 via F.M.	62 aA	108 aB	126 aA	193 aB
60 via F.M.	161 cA	184 bA	171 aA	178 aA
30 via ARS	69 aA	79 aA	129 aA	187 aB
60 via ARS	115 bA	171 bB	156 aA	207 aB
Média	93	138	142	196
CV (%)	⁽¹⁾ 46,33	⁽²⁾ 22,92	⁽¹⁾ 25,18	⁽²⁾ 15,26

Notas: Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas em cada ano, apresentaram diferença estatística pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, para cada ano de cultivo. CV (%) ⁽¹⁾ corresponde ao coeficiente de variação total. CV (%) ⁽²⁾ corresponde ao coeficiente de variação da inoculação.

O aumento do número de grãos por espiga, conforme se aumentou a dose de nitrogênio em milho, também, foi observado por Soratto *et al.* (2011) e Caires e Milla (2016). O rendimento de grãos de milho está diretamente relacionado à disponibilidade de N no solo e a sua absorção pela planta (MUZILLI, 1982). Por eliminar a deficiência de N no início de desenvolvimento das plantas, a aplicação de adubo nitrogenado em semeadura do milho proporcionaria maior rendimento de grãos do que em cobertura. Assim, maiores produtividades de grãos de milho em resposta à adubação nitrogenada podem ser decorrentes do aumento no número de grãos por espiga (NOVAKOWISKI *et al.*, 2011).

A massa da ráquis de milho foi superior nos tratamentos com 60 kg ha⁻¹ de N aplicados via fertilização mineral e via água residuária de suinocultura no ano de 2014 (Tabela 6). Nos dois anos de cultivo observados, os tratamentos com inoculação apresentaram maiores massas de ráquis.

A dose de 30 kg ha⁻¹ de N, aplicados via ARS, apresentou massa da ráquis maior que na adubação mineral na mesma dose, nos dois anos avaliados. A determinação da massa da ráquis de milho produzida é importante, pois existem estudos que visam utilizar a biomassa da planta de milho, principalmente a ráquis, para uso na produção de etanol (MOURTZINIS *et al.*, 2015).

O comprimento da espiga apresentou maiores valores para os tratamentos com maiores doses de N (Tabela 7). O tratamento com a dose de 60 kg ha⁻¹ apresentou maiores valores de comprimento de espiga, tanto com fertilizante mineral quanto água residuária de suinocultura. O uso de *A. brasilense* apresentou aumento de até 23% no comprimento da espiga, quando comparado ao mesmo tratamento sem inoculação, nos anos de 2014 e 2015.

Tabela 6 Massa (g) da ráquis de milho com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS) ou fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois anos consecutivos

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
0	12,02 aA	12,23 aA	43,25 bA	48,87 aA
30 via F.M.	15,62 aA	25,48 bB	37,93 aA	52,75 aB
60 via F.M.	52,11 bA	61,71 cB	45,50 bA	54,41 cB
30 via ARS	30,87 aA	32,76 bA	35,42 aA	50,88 aB
60 via ARS	46,44 bA	66,58 cB	40,92 bA	52,94 bB
Média	31,41	40,55	40,60	51,97
CV (%)	⁽¹⁾ 36,26	⁽²⁾ 16,52	⁽¹⁾ 19,86	⁽²⁾ 11,42

Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas em cada ano, apresentaram diferença estatística pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, para cada ano de cultivo. CV (%) ⁽¹⁾ corresponde ao coeficiente de variação total. CV (%) ⁽²⁾ corresponde ao coeficiente de variação da inoculação.

Tabela 7 Comprimento de espiga (cm) de milho produzida com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral, sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois anos de observação

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
0	8,76 aA	8,79 aA	13,78 aA	14,68 aB
30 via F.M.	9,34 aA	10,92 aA	12,92 aA	15,30 aB
60 via F.M.	15,20 bA	16,74 bA	14,14 bB	15,57 bA
30 via ARS	11,79 aA	12,09 aB	12,52 aA	15,00 aA
60 via ARS	14,29 bA	17,52 cB	13,40 bA	15,33 bB
Média	11,87	13,21	13,35	15,18
CV (%)	⁽¹⁾ 36,26	⁽²⁾ 16,52	⁽¹⁾ 19,86	⁽²⁾ 11,42

Notas: Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas em cada ano, apresentaram diferença estatística pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, para cada ano de cultivo. CV (%) ⁽¹⁾ corresponde ao coeficiente de variação total. CV (%) ⁽²⁾ corresponde ao coeficiente de variação da inoculação.

Os tratamentos com dose de 60 kg ha⁻¹ apresentaram maior eficiência agrônômica do uso do nitrogênio aplicado nas plantas de milho, nos dois anos de cultivo avaliados (Tabela 8). A importância da avaliação da eficiência agrônômica do uso de algum nutriente está em determinar a dose aceitável para alcançar a máxima eficiência em termos de produtividade de grãos. O uso do *A. brasilense* aumentou a eficiência agrônômica do uso do N pelas plantas de milho. Esse fato também é decorrente do aumento da superfície de absorção das raízes da planta e, conseqüentemente, no aumento do volume de solo explorado, o que torna o uso dos nutrientes pela planta mais eficiente (NUNES *et al.*, 2016).

Tabela 8 Eficiência agronômica de uso do nitrogênio pelas plantas de milho em razão da biofertilização com água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois anos de observação

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
0	-	-	-	-
30 via F.M.	3,18	1,75	2,78	2,54
60 via F.M.	10,76	11,95	15,10	14,77
30 via ARS	2,69	6,90	6,87	2,35
60 via ARS	4,64	8,92	7,97	12,47
Média	4,253	5,904	6,544	6,425

Apesar de baixos valores de eficiência agronômica do uso de N, esses resultados são expressivos. Viana *et al.* (2011) encontraram valores de recuperação de 41% para aplicações de N de 300 kg ha⁻¹. Os autores consideraram baixa eficiência de recuperação de N. Esse valor corresponde a, aproximadamente, 8% de recuperação, quando comparado aos 60 kg há⁻¹ aplicados neste experimento.

Estudos realizados por Fernandes *et al.* (2008), com aplicações de nitrogênio em cobertura em milho, registraram valores de eficiência agronômica do uso de N de 1,97 e 3,72% com adubações de cobertura de 90 e 60 kg ha⁻¹, respectivamente, sendo esses valores inferiores aos encontrados com N proveniente de ARS.

A ausência de resposta mais expressiva ao fator fontes de adubação nitrogenada pode ser explicada pelas condições ambientais desfavoráveis para perdas acentuadas de N por lixiviação do NO₃⁻ e volatilização da amônia (MOTA *et al.*, 2015). A intensidade do processo de lixiviação é inversamente proporcional ao número de sítios de adsorção. Por isso, para uma mesma quantidade de adubo aplicado, a lixiviação será diretamente proporcional ao teor de areia do solo e inversamente proporcional aos teores de argila e de matéria orgânica (ERNANI, 2008). O LATOSSOLO VERMELHO da área onde o experimento foi desenvolvido possui 66,5% de argila, ou seja, textura muito argilosa com grande quantidade de matéria orgânica, assim, é pouco propício a perdas de N por lixiviação de NO₃⁻ (DAL BOSCO *et al.*, 2013). No entanto, pelo excesso de precipitações pluviométricas registrado no ano de 2014, e o fato do experimento ter sido iniciado no período de maiores chuvas, chegando a 500 mm, nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro (Figura 1), é possível que tenha ocorrido lixiviação de NO₃⁻ e, conseqüentemente, menor aproveitamento do N aplicado, o que explicaria a diferença da eficiência agronômica do N entre os dois anos de cultivo.

Assim como o *Rhizobium*, as bactérias do gênero *Azospirillum* são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico e podem contribuir diretamente para a nutrição nitrogenada de várias

espécies de poáceas, promovendo seu crescimento e diminuição do uso de fertilizantes nitrogenados sem reduções no rendimento (HUNGRIA *et al.*, 2010; FERREIRA *et al.*, 2013; SPOLAOR *et al.*, 2016). No entanto, o uso de fertilizantes é necessário, independente da fonte, em uma dose que não seja inferior à necessidade inicial do milho, até que ocorra a simbiose, e que a dose não seja tão superior a ponto de prejudicar a simbiose do *Azospirillum brasilense* com a planta.

Os resultados avaliados permitem afirmar que o sucesso da inoculação com *Azospirillum brasilense* na fixação do nitrogênio no sistema solo-planta e a eficiência de uso do nitrogênio pelo milho é dependente do sistema de cultivo, da quantidade e época de aplicação do fertilizante como também das condições edafoclimáticas.

A aplicação da bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense* via solução nas sementes associadas às fontes de nitrogênio testadas, não interfere na população de plantas e no número de espigas por plantas.

A adoção dessa prática com a dose de 30 kg ha⁻¹ não foi suficiente para produção de milho esperada. Assim, o uso de fertilizantes nitrogenados (mineral ou água residuária de suinocultura) é necessário e não permite a redução de 60 para 30 kg ha⁻¹ da dose na adubação de semeadura. O uso do inoculante associado à adição de fertilizantes nitrogenados na dose de 60 kg ha⁻¹ de N promove maior índice de clorofila, número de grãos e comprimento da espiga, massa da ráquis e a eficiência agrônômica do uso de N pelo milho.

4 CONCLUSÃO

Nas condições em que o experimento foi realizado, pode-se concluir que o uso da água residuária de suinocultura na dose de 60 kg ha⁻¹, associada à inoculação com *Azospirillum brasilense*, permite a produção de milho semelhante à do fertilizante mineral.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. L.; MUNDSTOCK, C. M. A qualidade da luz afeta o afilhamento em plantas de trigo, quando cultivadas sob competição. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 401-408, 2001.
- AMARAL FILHO, J.P.R.; FORNASIERI FILHO, D.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J.C. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, n.3, p.467-473, 2005.
- ARGENTA, G.; SILVA P. R. F.; FOSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M. L.; SUHR, E.; TEICHMANN, L. L. Adubação nitrogenada em milho pelo monitoramento do nível de nitrogênio na planta por meio do clorofilômetro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 109-119, 2003.
- BEYRANVAND, H.; FARNIA, A.; NAKHJAVAN, S.; SHABAN, M. Response of yield and yield components of maize (*Zea mays* L.) to different bio fertilizers. **International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research**, v. 1, n. 9, p. 1068-1077, 2013.
- BONO, J.; RODRIGUES, A.; MAUAD, M.; ALBUQUERQUE, J.; YAMAMOTO, C.; CHERMOUTH, K.; FREITAS, M. Modo de aplicação de fertilizantes nitrogenados na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 1, n. 2, p. 91-102, 2008.
- BREMNER, J. M.; MULVANEY, C. S. Nitrogen-total: determination of nitrogen in soil by Kjeldahl method. **Journal Agricultural Science**, Madison, v. 55, p. 11-33, 1965.
- BUCKLEY, K. E.; MOHR, R. M.; THERRIEN, M. C. Yield and quality of oat in response to varying rates of swine slurry. **Canadian Journal of Plant Science**, Manitoba, v. 4, n. 90, p. 645-653, 2010.
- CAIRES, E. F.; MILLA, R. Adubação nitrogenada em cobertura para o cultivo de milho com alto potencial produtivo em sistema de plantio direto de longa duração. **Bragantia**, Campinas, v. 75, n. 1, p. 87-95, 2016.
- CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van; CAMARGO, C.E.O. Adubação de cereais. In: RAIJ, B. van.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônômico, 1997. p.43-50. (IAC. Boletim técnico, 100).
- CANTARELLA, H.; DUARTE, A. P. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. **Tecnologias de Produção do milho**. Viçosa - MG: UFV, 2004. p. 139-182.
- CAVALLET, L. E., LUCCHESI, L. A. C., MORAES, A., SCHIMIDT, E., PERONDI, M. A., FONSECA, R. A. Melhoria da fertilidade do solo decorrentes da adição de água residuária da indústria de enzimas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 10, p. 724-729, 2006.
- CAVIGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000. 1 CD-ROM.

CELA, S.; BERENQUER, P.; SANTIVERI, F.; LLOVERAS, J. Potential phosphorus, potassium, and magnesium surpluses in an irrigated maize monoculture fertilized with pig slurry. **Agronomy Journal**, Madison, v. 102, n. 1, p. 96-102, 2010.

CHAPMAN, S. C.; BARRETO, H. J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. *Agronomy Journal*, Madison, v. 89, n. 1, p. 557-562, 1997.

CHUBATSU, L. S., MONTEIRO, R. A., SOUZA, E. M.; OLIVEIRA, M. A. S.; YATES, M. G.; WASSEM, R.; BONATTO, A. C.; HUERGO, L.; STEFFENS, M. B. R.; RIGO, L. U.; PEDROSA, F. O. Nitrogen fixation control in *Herbaspirillum seropedicae*. **Plant and Soil**, Crowley, v. 356, n. 1, p. 197-207, 2012.

COELHO, A. M. **Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007. (Circular técnica, 96).

DAL BOSCO, T. C.; SAMPAIO, S. C.; COELHO, S. R. M.; CORRÊA, M. M.; MACIEL NETTO, A.; COSMANN, N. J. The influence of organic matter from swine wastewater on the interaction and transport of alachlor in soil. **Acta Scientiarum**. Agronomy, Maringá, v. 35, n. 3, p. 277-286. 2013.

DAVISON, J. Plant beneficial bacteria. **Biotechnology**, Cambridge, v. 6, n. 1, p. 282-286, 1988.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 306 p.

ERNANI, P. R. **Química do solo e disponibilidade de nutrientes**. Lages: O autor, 2008. 230 p.

ESPÍNDULA, M. C.; ROCHA, V. S.; SOUZA, M. A.; CAMPANHARO, M.; PIMENTEL, A. J. B. Urease inhibitor (NBPT) and efficiency of single or Split application of urea in wheat crop. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 2, p. 273-279. 2014.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. **Advances in Agronomy**, Newark, v. 88, s/n, p. 97-185, 2005.

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

FARINELLI, R.; LEMOS, L.B. Nitrogênio em cobertura na cultura do milho em preparo convencional e plantio direto consolidados. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.42, n.1, p. 63-70, 2012.

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

FERREIRA, A. C. B. **Efeitos da adubação com N, Mo, Zn sobre a produção, qualidade dos grãos e concentração de nutrientes no milho**. 1997. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997. 72 p.

FERREIRA, A. S.; PIRES, R. R.; RABELO, P. G.; OLIVEIRA, R. C.; LUZ, J. M. Q.; BRITO, C. H. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. **Applied Soil Ecology**, v. 72, p. 103-108, 2013.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FEY, R.; LANA, M. C.; ZOZ, T.; RICHART, A.; LUCHESE, E. B. Relações entre lixiviação de nitrato e produção de biomassa do milho com dejetos suínos provenientes de diferentes tratamentos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, n. 2, p. 212-218, 2010.

HARPER, J. L. **Population biology of plants**. New York: Academic Press, 1977. 892p

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Crowley, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, 2010.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ – IAPAR. **Cartas climáticas do estado do Paraná**. Londrina: IAPAR, 1998.

JAKELAITIS, A. *et al.* Influência de herbicidas e de sistemas de semeadura de *Brachiaria brizantha* consorciada com milho. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 1, p. 59-68, 2005.

JORDÃO, L. T.; LIMA, F. F.; LIMA, R. S.; MORETTI, P. A. E. M.; PEREIRA, H. V.; MUNIZ, A. S.; OLIVEIRA, M. C. N. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. *In*: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de plantas, 2010, Guarapari. Fontes de nutrientes e produção agrícola: modelando o futuro. **Anais...** Viçosa: SBCS, 2010. 4 p. 1 CD-ROM.

KLOEPPER, J. W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R. M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends Biotechnology**, v. 7, p. 39-43. 1989.

LAI, W. A.; REKHA, P. D.; ARUN, A. B.; YOUNG, C. C. Effect of mineral fertilizer, pig manure, and *Azospirillum rugosum* on growth and nutrient contents of *Lactuca sativa* L. **Biological Fertilizer Soils**, Taichung, v. 45, n. 2, p. 155–164, 2008.

LENTZ, R. D.; IPPOLITO, J. A.; SPOKAS, K. A. The effects of biochar and manure in silage corn. **Progressive Forage Grower**, v. 16, n. 2, p. 26-29, 2015.

MARQUES JÚNIOR, R. B., CANELLAS, L. P., SILVA, L. G., OLIVARES, F. L. Promoção de enraizamento de microtoletes de cana-de-açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 1 p. 1121-1128, 2008.

MOTA, M. R.; SANGOI, L.; SCHENATTO, D. E.; GIORDANI, W.; BONIATTI, C. M.; DALL'IGNA, L. Fontes estabilizadas de nitrogênio como alternativa para aumentar o rendimento de grãos e a eficiência de uso do nitrogênio pelo milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, n. 2, p. 512-522, 2015.

MOURTZINIS, S.; ARRIAGA, F.; BALKCOM, K. S.; PRICE, A. J. Vertical distribution of corn biomass as influenced by cover crop and stover harvest. **Agronomy Journal**, Madison, v. 107, n. 1, p. 232-240, 2015.

MUZILLI, O. Nutrição e adubação potássica da soja no Brasil. *In*: SIMPÓSIO SOBRE POTÁSSIO NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 1982, Londrina. **Anais...** Piracicaba: Instituto da Potassa e do Fosfato; Instituto Internacional da Potassa, 1982. p. 339-372.

NOVAKOWISKI, J. H. *et al.* Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Semina**: Ciências Agrárias, Londrina, v. 32, p. 1687- 1698, 2011.

NUNES, A. R. A. *et al.* Nitrogênio no crescimento da planta e na qualidade de raízes da mandiocinha-salsa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 2, p. 242-247, 2016.

PANKIEVICZ, V. C. S.; AMARAL, F. P.; SANTOS, K. F. D. N.; AGTUCA, B.; XU, Y.; SCHUELLER, M. J.; ARISI, A. C.; STEFFENS, M. B. R.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O.; STACEY, G.; FERRIERI, R. A. Robust biological nitrogen fixation in a model grass–bacterial association. **Plant Journal**, London, v. 81, n. 6, p. 907–919. 2015.

PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Disponibilidade de nutrientes no solo - decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 911-920, 2008.

PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; LONGUI, W. V.; GITTI, D. C.; BARBIERI, M. K. F.; GONZAGA, A. R.; TEIXEIRA, D. S. Inoculação com *Azospirillum brasilense* via foliar associada à doses de nitrogênio em cobertura na cultura do milho. *In*: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29, 2012, Águas de Lindóia. **Resumos...** Campinas: IAC/ABMS, 2012. p. 1413-1419.

PRIOR, M.; SAMPAIO, S. C.; NOBREGA, L. H. P.; URIBE, M. A. O.; DIETER, J.; PEGORARO, T. Combined pig slurry and mineral fertilization for corn cultivation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 56,n. 2, p. 337-348, 2013.

QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRHS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2.ed. rev. e atual. Campinas: Instituto Agrônômico; Fundação IAC, 1997. 285 p. (Boletim Técnico, 100).

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

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO - SBCS. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo; Comissão de Química e Fertilidade do Solo, 2004. 400 p.

SORATTO, R. P., SILVA, A. H., CARDOSO, S. M. E MENDONÇA, C. G. Doses e fontes alternativas de nitrogênio no milho sob plantio direto em solo arenoso. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, p. 62-70, 2011.

SOUZA, L. C. F.; GONÇALVES, M. C.; ALVES SOBRINHO, T.; FEDATTO, E.; ZANON, G. D.; HASEGAWA, E. K. B. Culturas antecessoras e adubação nitrogenada na produtividade

de milho em plantio direto irrigado. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.3, n.2, p. 55-62, 2003.

SPOLAOR, L. T.; GONÇALVES, L. S. A.; SANTOS, O. J. A. P.; OLIVEIRA, A. L. M.; SCAPIM, C. A.; BERTAGNA, F. A. B.; KUKI, M. C. Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization at topdressing in popcorn agronomic performance. **Bragantia**, Campinas, v. 75, n.1, p. 33-40, Jan./Mar. 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2013. 954 p.

VIANA, M. C. M.; FREIRE, F. M.; FERREIRA, J. J.; MACÊDO, G. A. R.; CANTARUTTI, R. B.; MASCARENHAS, M. H. T. Adubação nitrogenada na produção e composição química do capim-braquiária sob pastejo rotacionado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 7, p. 1497-1503, 2011.

YADAV, S.; YADAV, J.; SINGH, S. G. Performance of *Azospirillum* for improving growth, yield and yield attributing characters of maize (*Zea mays* L.) in presence of nitrogen fertilizer. **Research Journal of Agricultural Sciences**, v. 2, n. 1, p. 139-141, 2011.

YOSEFI, K.; GALAVI, M.; RAMRODI, M.; MOUSAVI, S. R. Effect of bio-phosphate and chemical phosphorus fertilizer accompanied with micronutrient foliar application on growth, yield and yield components of maize. **Australian Journal of Crop Science**, Sidney, v. 5, n. 2, p. 175-180, 2011.

**ARTIGO 3 - QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO EM RESPOSTA À
BIOFERTILIZAÇÃO COM ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA E À INOCULAÇÃO
COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS**

RESUMO

A fonte de nitrogênio utilizada no manejo nutricional do milho pode influenciar o rendimento e a qualidade das sementes produzidas, sendo um fator importante para o sucesso da produção. No entanto, a investigação sobre o uso associado de bactérias fixadoras de nitrogênio e água residuária de suinocultura é limitada. Sendo assim, este experimento foi conduzido, em campo, durante dois anos consecutivos com o objetivo de avaliar os efeitos do inóculo de *Azospirillum brasilense*, associado a taxas de água residuária de suinocultura, sobre a produção e qualidade fisiológica das sementes de milho. Três taxas de aplicação do biofertilizante foram utilizadas (correspondentes a 0; 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, respectivamente), com fertilização mineral nas mesmas doses, com e sem inóculo, totalizando dez tratamentos, com quatro repetições cada. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. A interação entre o biofertilizante e *A. brasilense* foi benéfica para a germinação e o vigor das sementes de milho e seu uso pode auxiliar significativamente o aumento da produtividade.

Palavras-chave: fixação biológica de nitrogênio, germinação, *Zea mays* L.

PAPER 3: CORN SEEDS QUALITY IN RESPONSE TO SWINE WASTEWATER AND INOCULATION WITH DIAZOTROPHIC BACTERIA

ABSTRACT

The nitrogen source used in the nutritional management of corn can influence the yield and seed quality, being an important factor for the success of yield. However, research on combined use of nitrogen-fixing bacteria and swine wastewater is limited. Thus, a trial was carried out on field during two consecutive years in order to evaluate the effects of *A. brasilense* inoculum associated with swine wastewater rates on yield and physiological quality of corn seeds. Three bio-fertilizer application rates were used (corresponding to doses of 0, 30 and 60 kg ha⁻¹ of nitrogen, respectively) and mineral fertilization at the same doses, with and without inoculum, totaling ten treatments with four replications each. Data were subjected to analysis of variance and means compared by Duncan test at 0.05 probability. The interaction between the bio-fertilizer and *A. brasilense* was beneficial for germination and vigor of corn seeds and its can greatly help increase corn yield.

Keywords: biological nitrogen fixation, germination, *Zea mays* L.

1 INTRODUÇÃO

As fontes de nutrientes mais usadas para o milho são os fertilizantes minerais. O comércio brasileiro de fertilizantes, no entanto, é frágil e altamente dependente de importações, as quais são responsáveis pelo fornecimento de 73% de N, 49% de P e 90% de K utilizados (HUNGRIA *et al.*, 2010). O nitrogênio (N) é o mais importante entre nutrientes minerais para o crescimento do milho e limitante para a produtividade, sua aplicação é necessária em grandes quantidades, a fim de atender à demanda das culturas (DOTTO *et al.*, 2010).

Os baixos níveis de rendimento obtidos em muitos locais têm como causa principal a baixa disponibilidade de nutrientes no solo, especialmente N (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Como alternativa, a planta pode beneficiar-se do processo de fixação biológica de nitrogênio e, assim, reduzir a dependência de fertilizantes nitrogenados, reduzindo o custo de produção (HUNGRIA *et al.*, 2010). Outra fonte de baixo custo de nutrientes, utilizada no Brasil, é a água residuária de suinocultura (ARS), produto de digestão anaeróbia de estrume suíno. Ela é produzida em grandes quantidades e contém em sua composição: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), sódio (Na), magnésio (Mg), cálcio (Ca), cobre (Cu), ferro (Fe), zinco (Zn) e manganês (Mn) (PENHA *et al.*, 2015).

Segundo Bashan e Bashan (2010), é necessário determinar o melhor ajuste entre as bactérias inoculadas, diferentes fertilizantes, e seus efeitos sobre a resposta da planta. Isso é importante para avaliar a eficiência das bactérias diazotróficas e recomendar sua utilização mais viável. Com o intuito de se avaliar o ajuste na nutrição da planta mãe, a avaliação da qualidade de sementes permitem a obtenção de informações seguras sobre o potencial fisiológico e tem significativa importância para decisões sobre o processo produtivo e a comercialização das sementes (BITTENCOURT *et al.*, 2012).

Porém, estudos referentes a essas bactérias no Brasil se restringem a laboratórios, no isolamento e no estudo bioquímico. Assim, são necessários estudos práticos, em campo, para maior compreensão da interação planta-micro-organismo-ambiente de forma mais aprofundada, em função do desenvolvimento da cultura, que possibilitem calcular o efeito da ação dessas bactérias no rendimento final de forma direta e precisa (CUNHA *et al.*, 2014).

O benefício da boa nutrição das plantas, desde a fase inicial de crescimento, é que estas, por sua vez, têm todo o aporte para produção de maior número de sementes por planta. A boa formação do embrião e tecidos de reserva e sua composição química, dependem da disponibilidade adequada de nutrientes no substrato de crescimento das plantas, o que certamente irá influenciar positivamente no metabolismo e vigor da semente

(CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Sementes de melhor qualidade apresentam desempenho superior em todos os aspectos do cultivo (ANDREOLI *et al.*, 2002), dentre eles, pode-se citar: a uniformidade da população, maior vigor de plântulas e plantas, menor índice de patógenos oriundos de sementes e, conseqüentemente, maior produtividade (DIAS; MONDO; CÍCERO, 2010). Portanto, avaliações que permitam a obtenção de informações seguras sobre o potencial fisiológico das sementes são de importância fundamental para as decisões a serem tomadas durante o processo produtivo e na comercialização das sementes (BITTENCOURT *et al.*, 2012).

Plântulas vigorosas podem competir mais eficientemente, sobretudo em condições de estresse por luz, nutrientes e água, influenciando o estabelecimento da população e a produção de grãos (FAROOQ; BARSA; WAHID, 2006). Sendo assim, a aplicação de bactérias diazotróficas, com o objetivo de favorecer a germinação e o estabelecimento das plantas de milho, pode se traduzir em tecnologia de baixo custo e fácil adoção (ARAÚJO *et al.*, 2014).

Nesse contexto, a utilização de inóculos com bactérias diazotróficas em sementes de milho junto às taxas de aplicação de dejetos no solo, para suprir a demanda das plantas por nutrientes, pode ser alternativa para aumentar a absorção de nutrientes pela planta-mãe, gerando sementes mais vigorosas com diminuição do custo de produção.

Com base no exposto, estabeleceu-se como objetivo deste trabalho avaliar a qualidade fisiológica e a produtividade de sementes de milho, em resposta à adubação nitrogenada com fertilizante mineral e água residuária de suinocultura, associados à inoculação com *A. brasilense*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização da área experimental

O experimento foi conduzido no Núcleo Experimental de Engenharia Agrícola da UNIOESTE, na cidade de Cascavel, Paraná, Brasil, durante os anos agrícolas de 2013/2014 e 2014/2015. As coordenadas geográficas do local são 24°48' de latitude sul e 53°26' de longitude oeste, altitude média de 760 m. O clima da região, de acordo com a classificação de Köppen, é do tipo Cfc, subtropical, mesotérmico e superúmido, com precipitação média

anual de 1800 mm, verões quentes, com tendência de concentrações de chuvas, sem estação seca definida e geadas pouco frequentes. A temperatura média anual é em torno de 20 °C e a umidade relativa do ar média é de 75% (IAPAR, 1998).

O solo da área experimental é classificado como LATOSSOLO VERMELHO Distroférico típico (EMBRAPA, 2013), substrato basalto e relevo suave ondulado. A análise do solo, realizada em dezembro de 2013, apresentou 655 g kg⁻¹ de argila; 44,12 g dm⁻³ de matéria orgânica; pH (H₂O) 5,8; 7,83 mg dm⁻³ de P disponível; 0,33 cmol_c kg⁻¹ de K⁺; 6,06 cmol_c kg⁻¹ de Ca²⁺; 3,74 cmol_c kg⁻¹ de Mg²⁺; 4,85 cmol_c kg⁻¹ de H⁺⁺Al³⁺ e CTC de 14,1 cmol_c kg⁻¹. A área experimental é cultivada em sistema de semeadura direta há mais de 20 anos, com soja (*Glycine max* L.), milho (*Zea mays* L.), aveia-preta (*Avena strigosa*), nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) e azevém (*Lolium multiflorum* L.).

As médias mensais de temperatura máxima e mínima (°C) e precipitação pluviométrica acumulada (mm) durante o período experimental estão apresentadas na Figura 1.

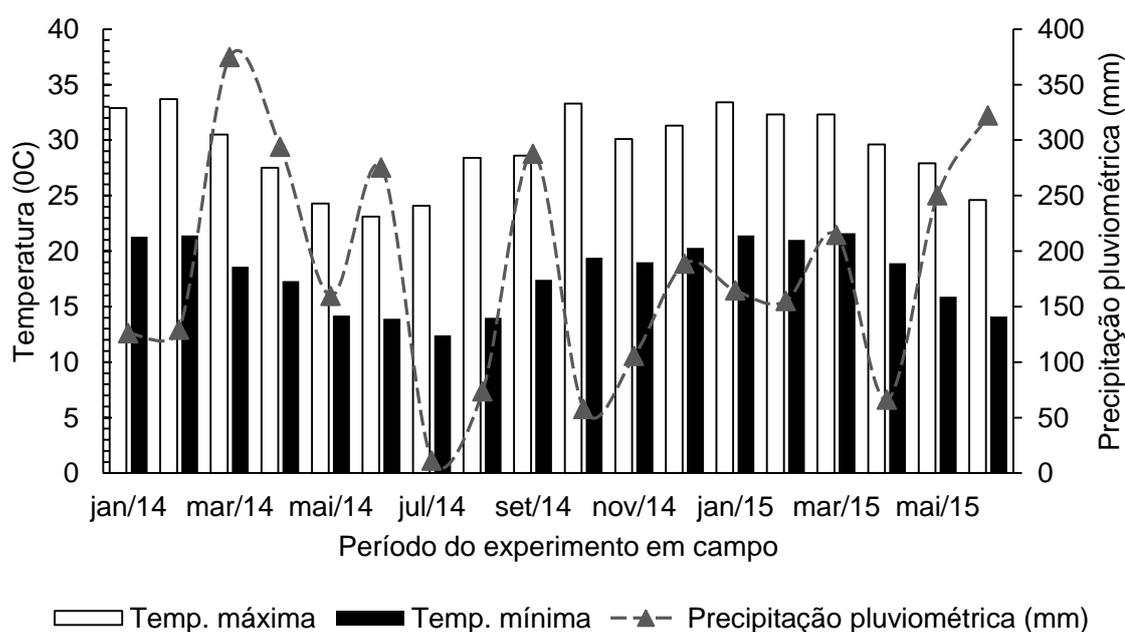


Figura 1 Médias mensais de temperatura máxima e mínima (°C) e precipitação pluviométrica acumulada (mm) durante o período experimental. Fonte: Simepar (2015).

2.2 Inoculação e aplicação dos tratamentos

A inoculação das sementes (sem tratamento com agroquímicos) foi realizada em um recipiente desinfetado, duas horas antes da semeadura. As estirpes de *A. brasilense* utilizadas foram AbV-5 e AbV-6, cedidas pela Nitro1000[®], na dose de 100 mL para 60.000 sementes, na concentração de $2,0 \times 10^8$ ufc mL⁻¹.

A variedade de milho foi a IPR 114, cedida pelo Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR. As semeaduras foram realizadas nos dias 08/01/2014 e 26/11/2014, com semeadora manual, primeiramente com as sementes sem inóculo, nas linhas demarcadas, sob sistema plantio direto, com espaçamento entre as linhas de semeadura de 0,8 m, cinco plantas por metro, objetivando população final de 62.500 plantas ha⁻¹. As parcelas de quatro linhas de 3,0 m foram demarcadas com espaçamento de 2,0 m entre parcelas.

A água residuária de suinocultura foi tratada em biodigestor, seguido de tanque de sedimentação (decantador) e lagoa facultativa, sendo coletada em uma criação de suínos no município de Toledo-PR, nos dois anos de cultivo.

Cada parcela teve seu respectivo tratamento, com quatro repetições, totalizando 40 parcelas dispostas em faixas. A água residuária foi coletada para caracterização química 24 h antes da aplicação e as características físico-químicas encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 Características físico-químicas da água residuária de suinocultura, obtidas em cada aplicação em janeiro e novembro de 2014

Parâmetro (mg L ⁻¹)	Janeiro	Novembro	Determinação
N _{total}	1.867,2	1.386,4	Micro-Kjeldahl ¹
Fósforo total	125,4	119,8	Espectrofotômetro visível
Potássio	575,4	484,7	EAA ²
Sódio	153,6	163,0	EAA
Cálcio	51,4	39,2	EAA
Magnésio	31,6	28,2	EAA
Cobre	0,91	0,69	EAA
Zinco	4,13	3,15	EAA
Ferro	4,09	2,79	EAA
Manganês	0,38	0,24	EAA
Cond. elétrica (μS cm ⁻¹)	1963,9	1682,7	Condutivímetro
pH	8,1	7,8	pHmetro
Densidade (g cm ⁻³)	1,003	1,004	Gravimetria

Notas: ¹ Bremner; Mulvaney (1965); ²EAA = Espectrofotômetro de absorção atômica.

Na adubação de semeadura foram aplicados 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ via superfosfato triplo (42% de P₂O₅) e 50 kg ha⁻¹ de K₂O via cloreto de potássio (58% de K₂O). Nos

tratamentos com adubação mineral nas doses de 30 e 60 kg ha⁻¹ de N, foi utilizada ureia (45% de N).

A fonte de N utilizada para os tratamentos com adubação mineral foi fertilizante 33-0-0, resultante da mistura de ureia e sulfato de amônio. Os tratamentos foram de 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio na semeadura. Estas são as doses médias utilizadas no Brasil (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000; AMARAL FILHO *et al.*, 2005; CANTARELLA *et al.*, 1997; COELHO, 2007; FARINELLI; LEMOS, 2012. PAVINATO *et al.*, 2008, SOUZA *et al.*, 2003;).

A colheita foi realizada manualmente aos 188 e 181 dias após a semeadura nos anos de 2014 e 2015, respectivamente. No momento da colheita, o teor de água das sementes estava entre 18 e 25%. Todas as espigas, de todas as plantas, de cada parcela, foram colhidas e colocadas em sacos de papel identificados.

2.3 Produtividade e testes de qualidade de sementes

As espigas com palha foram colocadas em estufa a 40 °C por 24 h para secagem. A limpeza e debulha foram realizadas manualmente. Posteriormente, as sementes foram pesadas para se determinar a produtividade, expressa no teor de água ajustado para 13%.

O teor de água (método da estufa 105 ± 3 °C / 24 h) e a porcentagem de germinação (plântulas normais, dados transformados em arco seno $(x/100)^{0.5}$), foram determinados de acordo com Brasil (2009), com quatro repetições por parcela.

O teste de envelhecimento acelerado foi realizado com 200 sementes de cada parcela, em caixas tipo gerbox sobre uma tela metálica. No fundo da caixa foram adicionados 40 mL de água destilada. As caixas foram mantidas em câmara de envelhecimento acelerado a 42 °C, durante 96 horas. O teste de germinação padrão foi realizado com quatro repetições e determinado o vigor pela contagem de plântulas normais aos sete dias após a semeadura.

O teste de frio foi utilizado para determinação da porcentagem de vigor, segundo Marcos Filho (2015). Rolos de papel germiteste umedecidos, com quatro repetições de 50 sementes de cada parcela, foram colocados em sacos plásticos e mantidos a 10 °C durante sete dias. Em seguida, os sacos plásticos foram retirados e os rolos colocados em germinador a 25 °C. Sete dias depois, o vigor foi determinado pela porcentagem de plantas normais.

2.4 Delineamento estatístico

O delineamento estatístico foi realizado em parcelas subdivididas com a subparcela disposta em faixas, com quatro repetições cada. Três taxas de aplicação do biofertilizante foram utilizadas (correspondentes às doses de 0; 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, respectivamente) e a fertilização mineral nas mesmas doses, com e sem inóculo, totalizando dez tratamentos. Os dados foram submetidos a testes de normalidade, análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água das sementes foi de, aproximadamente, 12% e não apresentou diferença estatística entre os tratamentos nos anos de cultivo analisados (Tabela 2). A ausência de diferença no teor de água pode ser decorrente da ativação dos mecanismos de reparo das membranas e dos sistemas enzimáticos de degradação de reservas (ZUCARELI *et al.*, 2012) e do equilíbrio higroscópico com o ambiente durante o processo de secagem, na espiga com palha, durante o beneficiamento (NASCIMENTO; QUEIROZ, 2011). Esse parâmetro caracteriza a uniformidade e é importante para condução dos testes, uma vez que a uniformidade do teor de água das sementes é essencial para padronizar as avaliações e obtenção de resultados significativos (MARCOS FILHO, 1999).

Tabela 2 Teor de água (%) de sementes de milho com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral, sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois anos consecutivos

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
0	12,3 aA	11,6 aA	11,7 aA	12,0 aA
30 via F.M.	12,2 aA	12,6 aA	11,4 aA	12,0 aA
60 via F.M.	11,6 aA	11,4 aA	11,4 aA	12,0 aA
30 via ARS	12,0 aA	13,0 aA	12,0 aA	11,7 aA
60 via ARS	11,4 aA	12,4 aA	11,8 aA	12,6 aA
Media	11,9	12,2	11,7	12,1
CV (%)	⁽¹⁾ 21,74	⁽²⁾ 8,39	⁽¹⁾ 5,6	⁽²⁾ 3,85

Notas: Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas em cada ano, apresentaram diferença estatística pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, para cada ano de cultivo. CV (%) ⁽¹⁾ corresponde ao coeficiente de variação total. CV (%) ⁽²⁾ corresponde ao coeficiente de variação da inoculação.

A massa média de cem sementes dos dois anos de cultivo foi de 32,33 g e não apresentou diferença estatística entre os tratamentos nos anos analisados (Tabela 3). A massa de cem sementes é parâmetro importante para a determinação da produção de milho, pois, quanto maior o incremento na massa de cem sementes maior é a produtividade para um mesmo número de sementes produzidas (ZUCARELI *et al.*, 2012). Entretanto, não foi observado aumento da massa de cem sementes, em relação às doses e fontes de nitrogênio utilizadas.

Tabela 3 Massa de cem sementes de milho (g) produzidas com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral, sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois anos consecutivos

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
0	30,51 aA	32,10 aA	35,03 aA	34,08 aA
30 via F.M.	30,02 aA	36,33 aA	31,00 aA	30,88 aA
60 via F.M.	33,01 aA	33,21 aA	30,78 aA	32,27 aA
30 via ARS	32,10 aA	32,21 aA	32,45 aA	32,14 aA
60 via ARS	30,02 aA	32,06 aA	33,77 aA	32,47 aA
Media	31,15	33,18	32,61	32,37
CV (%)	⁽¹⁾ 23,48	9,81	⁽¹⁾ 3,59	8,65

Notas: Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas em cada ano, apresentaram diferença estatística pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, para cada ano de cultivo. CV (%) ⁽¹⁾ corresponde ao coeficiente de variação total. CV (%) ⁽²⁾ corresponde ao coeficiente de variação da inoculação.

A variedade de milho IPR 114 apresenta massa de cem sementes em torno de 33,18 g (IAPAR, 2015), sendo este valor próximo ao observado no presente estudo. Bono *et al.* (2008) observaram aumento significativo de 11%, quando utilizaram tratamento com 60 kg ha⁻¹ de N, em relação ao tratamento controle. Já Meire *et al.* (2009), Zucareli *et al.*, (2012) e Araújo *et al.* (2014) não constataram diferenças na massa das sementes quando utilizada a dose de 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio em milho.

Os tratamentos com *A. brasilense* não apresentaram diferença estatística entre si e apresentaram maior porcentagem de germinação quando comparados aos sem inoculação. Esse comportamento foi mais expressivo na safra de 2014 (Tabela 4). O aumento na porcentagem de germinação foi até 14% maior, quando utilizado o *A. brasilense* e adubação na dose de 60 kg ha⁻¹ aplicados via água residuária de suinocultura. O aumento médio, quando utilizado o inóculo com *A. brasilense*, foi de 14 e 9% nas safras de 2014 e 2015, respectivamente.

Tabela 4 Germinação (%) de sementes de milho com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral, sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois anos consecutivos

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
0	72 aA	90 aB	88 aA	89 aA
30 via F.M.	71 aA	89 aB	90 aA	87 aA
60 via F.M.	85 aA	89 aB	83 aA	85 aA
30 via ARS	81 aA	85 aA	92 aA	92 aA
60 via ARS	72 aA	85 aB	89 aA	97 aB
Media	76	88	88	90
CV (%)	⁽¹⁾ 6,58	⁽²⁾ 4,25	⁽¹⁾ 11,78	⁽²⁾ 7,58

Notas: Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas em cada ano, apresentaram diferença estatística pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, para cada ano de cultivo. CV (%) ⁽¹⁾ corresponde ao coeficiente de variação total. CV (%) ⁽²⁾ corresponde ao coeficiente de variação da inoculação.

Alguns autores não encontraram diferença para a germinação de variedades de milho produzidas com variação em doses de fertilizantes (CÍCERO; TOLEDO; CAMPOS, 1979; LOPES *et al.*, 2004; ZUCARELI *et al.*, 2012), diferindo dos resultados encontrados neste estudo.

No Brasil, o limite mínimo de 80% para germinação foi estabelecido há mais de vinte anos, como na maioria dos países (PARANÁ, 1986; BRASIL, 2003). Levando-se em consideração esse parâmetro, apenas as sementes produzidas nos tratamentos inoculados com *A. brasilense* na safra 2014, poderiam ser comercializadas. Porém, na safra 2015, todas as sementes poderiam ser comercializadas. Em relação às espécies, o milho se destaca como o mínimo da germinação de 85%, isto devido à tecnologia de colheita, que é efetuada próximo do ponto de maturidade fisiológica (PESKE; MENEGHELLO, 2013).

A germinação das sementes é considerada por muitos profissionais como o mais importante atributo de qualidade, pois é possível um indicativo do estabelecimento das plantas no campo e, quanto maior o seu percentual, possivelmente, melhor será o estabelecimento em termos de uniformidade e distribuição das plantas. Nesse sentido, muitas empresas, apesar da lei estipular o mínimo de 80% de germinação, adotam limites mínimos superiores. No Brasil, há empresas que somente colocam no mercado lotes de sementes com germinação superior a 90%. Em sementes de milho, a grande maioria das empresas já está adotando este procedimento (PESKE; ROSENTHAL; ROTA, 2003).

Apenas a germinação não é suficiente para prever o comportamento da semente em campo, pois o teste é realizado em condições ótimas de umidade e temperatura, o que nem sempre ocorre no campo, onde as sementes sofrem diversos tipos de estresse, por isso os testes de vigor devem ser realizados (MARCOS FILHO, 2015).

O vigor, determinado pelo teste de envelhecimento acelerado, apresentou diferença estatística tanto para a fonte de N quanto para a inoculação com *A. brasilense* (Tabela 5). Os tratamentos que receberam água residuária de suinocultura apresentaram porcentagem de vigor semelhante à adubação mineral. Nos tratamentos em que se utilizou inoculação com bactérias diazotróficas, houve diferenças estatísticas, com maior vigor para as sementes produzidas com a inoculação.

Araújo *et al.* (2014) também não verificaram efeito da inoculação de sementes de milho com *A. brasilense*, nos resultados do envelhecimento acelerado, quando utilizaram a dose de 30 kg ha⁻¹ de N. Esse fato pode estar relacionado à grande parte do nitrogênio e do fósforo que são absorvidos pela planta-mãe e são translocados para as sementes, aumentando a qualidade do tecido de reserva (RITCHIE *et al.*, 1993).

Tabela 5 Vigor (%) determinado pelo teste de envelhecimento acelerado de sementes de milho produzidas com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral, sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois anos consecutivos

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
0	68 bA	60 abA	38 aA	76 aB
30 via F.M.	41 bA	58 abA	17 aA	51 aB
60 via F.M.	76 bA	87 bA	45 aA	50 aB
30 via ARS	11 aA	31 aA	45 aA	47 aA
60 via ARS	42 bA	42 aA	46 aA	74 aB
Media	48	56	44	54
CV (%)	⁽¹⁾ 25,70	⁽²⁾ 16,39	⁽¹⁾ 8,09	⁽²⁾ 7,72

Notas: Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas em cada ano, apresentaram diferença estatística pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, para cada ano de cultivo. CV (%) ⁽¹⁾ corresponde ao coeficiente de variação total. CV (%) ⁽²⁾ corresponde ao coeficiente de variação da inoculação.

A disponibilidade de macronutrientes como o nitrogênio, fósforo e potássio para a planta-mãe influencia na boa formação do embrião, do órgão de reserva e do tecido protetor, na sua composição química e, conseqüentemente, na qualidade fisiológica (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Assim, quanto maior a disponibilidade de N no solo, maior a probabilidade de se produzirem sementes com maior tecido de reserva.

Durante o teste de envelhecimento acelerado, ocorre a oxidação das reservas químicas do tecido da semente (DUTRA; VIEIRA, 2004), assim, a semente que apresentar maior quantidade de tecidos não oxidados quimicamente, apresentarão maior germinação após o teste. É possível que as sementes produzidas com maiores teores de N, tenham maior tecido de reserva e, conseqüentemente, maior quantidade de tecido de reserva não oxidado, assim, maior vigor.

O vigor determinado pelo teste de frio apresentou diferença significativa entre os tratamentos, sendo que os tratamentos controle, sem N, e com *A. brasilense* e 60 kg N ha⁻¹ na semeadura, diferiram estatisticamente entre si nos dois anos de cultivo. Ao se comparar o tratamento controle e o inoculado com *A. brasilense*, observou-se melhor desempenho do inoculado, ou seja, maior porcentagem de plântulas normais (Tabela 6), podendo-se inferir que a inoculação de bactérias diazotróficas melhorou a qualidade fisiológica das sementes de milho.

Tabela 6 Vigor (%) determinado pelo teste de frio, de sementes de milho produzidas com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral, sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois anos consecutivos

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
0	64 bA	88 aA	79 aA	90 abB
30 via F.M.	82 aA	80 aA	90 bA	85 aA
60 via F.M.	90 aA	90 aA	80 abA	91 aB
30 via ARS	95 aA	94 aA	93 abA	91 aA
60 via ARS	93 aA	92 aA	89 abA	94 bA
Media	84	89	86	90
CV (%)	⁽¹⁾ 14,23	⁽²⁾ 14,54	⁽¹⁾ 8,79	⁽²⁾ 6,99

Notas: Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas em cada ano, apresentaram diferença estatística pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, para cada ano de cultivo. CV (%) ⁽¹⁾ corresponde ao coeficiente de variação total. CV (%) ⁽²⁾ corresponde ao coeficiente de variação da inoculação.

Resultados similares foram obtidos por Cassán *et al.* (2009), com as culturas do milho e da soja, nas quais o tratamento de sementes com cepas de *A. brasilense* promoveu aumentos significativos no vigor e na viabilidade das sementes. Por outro lado, com o tratamento 30 kg N ha⁻¹ na semeadura obteve-se desempenho inferior ao do tratamento controle sem N e inoculado com *A. brasilense*, sendo possível afirmar que, de modo geral, apenas o manejo da adubação nitrogenada não melhorou a qualidade fisiológica das sementes. Os resultados da presente pesquisa corroboram os de Zucareli *et al.* (2012), que constataram que o nitrogênio aplicado nos diferentes estádios de desenvolvimento da cultura não interferiu na qualidade fisiológica das sementes do milho.

Ao se utilizar o inóculo de *A. brasilense* não ocorre apenas aumento do teor de N, mas de todos os outros nutrientes, pois o inóculo aumenta a quantidade de raízes da planta o que impulsiona a absorção de nutrientes (HUNGRIA *et al.*, 2010). Ao se aumentar a absorção de nutrientes, é propiciada à planta melhores condições de nutrição e crescimento. Plantas bem nutridas têm maiores chances de produzir sementes melhores, o que explicaria o melhor desempenho nos testes de vigor das sementes de milho testadas.

A produtividade de milho apresentou diferença significativa com maiores valores nos tratamentos com inóculo, sendo estes próximos a 12 000 kg ha⁻¹ no ano de 2015 (Tabela 7). O tratamento com 60 kg ha⁻¹ de N apresentou maiores valores quando utilizada a adubação mineral. Por outro lado, a biofertilização de água residuária de suinocultura apresentou valores semelhantes aos do fertilizante mineral, podendo ser alternativa para a produção de sementes de milho.

Tabela 7 Produtividade de milho (Mg ha⁻¹) com biofertilização de água residuária de suinocultura (ARS), fertilizante mineral (F.M.), sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois anos consecutivos

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2014		2015	
	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>	Sem inoculação	<i>A. brasilense</i>
0	2,54 aA	3,82 aB	2,36 aA	3,55 aB
30 via F.M.	3,41 aA	3,64 aA	3,03 aA	3,59 aA
60 via F.M.	8,15 bA	10,04 cB	10,24 cA	12,47 bB
30 via ARS	3,22 aA	6,35 bB	4,32 aA	4,29 aA
60 via ARS	4,79 abA	9,19 cB	6,72 bA	11,76 bB
Media	4,42	6,61	5,34	7,13
CV (%)	⁽¹⁾ 26,18	⁽²⁾ 10,11	⁽¹⁾ 14,53	⁽²⁾ 7,58

Notas: Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas em cada ano, apresentaram diferença estatística pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, para cada ano de cultivo. CV (%) ⁽¹⁾ corresponde ao coeficiente de variação total. CV (%) ⁽²⁾ corresponde ao coeficiente de variação da inoculação.

A produtividade média nacional de milho é em torno de 3,2 Mg ha⁻¹ de grãos (CONAB, 2014). Esta média é considerada baixa quando comparada com outros países, como Estados Unidos, com produção média de 11,3 Mg ha⁻¹ (USDA, 2015). É interessante ressaltar que apenas o tratamento controle sem inoculação apresentou produtividade inferior à média nacional. Já, o tratamento com 60 kg ha⁻¹ associado ao *A. brasilense* apresentou produtividade superior à média americana, no segundo ano de cultivo. Assim, pode-se inferir que o uso do *A. brasilense* auxilia no aumento da produtividade, mas é otimizado quando associado à outra fonte de N.

A variedade IPR 114, escolhida para este estudo, apresenta desempenho de produtividade de 8,5 Mg ha⁻¹ de grãos (IAPAR, 2015). O tratamento com a dose de 60 kg há⁻¹ de N com inoculação apresentou produtividade superior à produtividade média de desempenho, independente da fonte de N utilizada.

Ao comparar a média de desempenho da variedade de milho, é importante destacar que o milho variedade tende a apresentar menor produtividade do que os híbridos, pois estes são frutos de cruzamentos para melhorar o desempenho produtivo (OLIVEIRA; OLIVEIRA JUNIOR; ARNHOLD, 2012).

O aumento da produtividade promovido pelo *A. brasilense* possivelmente não se deve apenas pela fixação de N, mas também devido à promoção de substâncias promotoras de crescimento (BIARI; GHOLAMI; RAHMANI, 2008), como a proteção contra agentes patogênicos, aumento da resistência ao estresse salino (HUERGO *et al.*, 2008), estresse hídrico (RODRIGUEZ-SALAZAR *et al.*, 2009) e solubilização de fosfato (GRAY; SMITH, 2005).

A inoculação das sementes associada à adição de 24 kg ha⁻¹ de N na semeadura e 30 kg ha⁻¹ de N no estágio de florescimento, proporciona rendimentos médios em torno de 7.000 kg ha⁻¹. Desta forma, viabiliza economicamente a segunda safra, pois o *A. brasilense* pode suprir de 30 a 50 kg ha⁻¹ de N (FANCELLI, 2010), sendo indicado em regiões onde é possível produzir duas safras por ano (HUNGRIA, 2011). Resultado semelhante ao observado no presente estudo, em que houve aumento no rendimento do milho, quando utilizada a dose de 60 kg ha⁻¹ de N.

A adição de 50 kg ha⁻¹ de N em associação com a *A. brasilense* apresentou produção de grãos equivalente à aplicação de 130 kg ha⁻¹ de N (QUADROS *et al.*, 2014). Esses resultados também foram registrados por Basi (2013), quando utilizaram o inóculo e dose de 150 kg ha⁻¹ de N, observou incremento de produtividade de 11.874 kg ha⁻¹ de milho com a inoculação de *A. brasilense* nas sementes.

Aumentos de 26% no rendimento de grãos de milho foram reportados por Hungria *et al.* (2010), quando as plantas foram inoculadas juntamente com doses de 20-24 kg ha⁻¹ de N. Lana *et al.* (2012) verificaram que a inoculação de *Azospirillum* proporcionou incrementos de 7 a 14% na produtividade de grãos de milho, mesmo sem a adição de N. É provável que bactérias do gênero *Azospirillum* utilizem N oriundo da adubação nitrogenada, para assimilar carbono e multiplicar-se mais rapidamente, incrementando os efeitos da inoculação. Deve-se considerar, também, que o clima e o tipo de solo interferem na adaptação das bactérias inoculadas, o que pode acarretar variação nos resultados de inoculação, dependendo da localização geográfica (QUADROS *et al.*, 2014).

O milho é uma planta que responde linearmente à fertilização com nitrogênio, assim, qualquer fator que aumente a absorção, influenciará no rendimento do milho (PANDOLFO *et al.*, 2015).

4 CONCLUSÕES

Nas condições em que os experimentos foram realizados, pode-se concluir que:

- Os tratamentos com *A. brasilense* apresentaram maior produtividade, germinação e vigor das sementes analisadas.
- A associação com água residuária de suinocultura teve o mesmo desempenho que a associação com fertilizante mineral, assim, seu uso pode auxiliar no aumento significativo da produtividade de sementes de milho.

REFERÊNCIAS

AMARAL FILHO, J.P.R.; FORNASIERI FILHO, D.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J.C. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, n.3, p.467-473, 2005.

ANDREOLI, C.; ANDRADE, R. V.; ZAMORA, S. A.; GORDON, M. Influência da germinação da semente e da densidade de semeadura no estabelecimento do estande e na produtividade de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 1-5, 2002.

ARAÚJO, E. O.; VITORINO, A. C. T.; MERCANTE, F. M.; NUNES, D. P.; SCALON, S. P. Q. Qualidade de sementes de milho em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com bactérias diazotróficas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 9, n. 2, 2014, p. 159-165, 2014.

BASHAN, Y.; BASHAN, L.E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment. **Advances in Agronomy**, Madison, v. 108, n. 2, p. 77-136, 2010.

BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura de milho**. 2013. 50 f, Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, 2013.

BIARI, A.; GHOLAMI, A.; RAHMANI, H.A. Growth promotion and enhanced nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria in arid region of Iran. **Journal of Biological Sciences**, Riyadh, v. 8, n. 6, p. 1015-1020, 2008.

BITTENCOURT, S. R. M.; GRZYBOWSKI, C. R. S. ROBERVAL, M. P.; VIEIRA, D. Metodologia alternativa para condução do teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p. 1360-1365, 2012.

BONO, J.; RODRIGUES, A.; MAUAD, M.; ALBUQUERQUE, J.; YAMAMOTO, C.; CHERMOUTH, K.; FREITAS, M. Modo de aplicação de fertilizantes nitrogenados na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 1, n. 2, p. 91-102, 2008.

BRASIL. Congresso Nacional. **Lei nº 10.711**, de 5 de agosto de 2003. Dispõe sobre o sistema nacional de sementes e mudas e dá outras providências. Brasília: 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Cadeia Produtiva do Milho. 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho>. Acesso em: 15/05/2016.

BREMNER, J. M.; MULVANEY, C. S. Nitrogen-total: determination of nitrogen in soil by Kjeldahl method. **Journal Agricultural Science**, Madison, v. 55, p. 11-33, 1965.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van; CAMARGO, C.E.O. Adubação de cereais. In: RAIJ, B. van.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônomo, 1997. p.43-50. (IAC. Boletim técnico, 100).

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) **European Journal of Soil Biology**, Braunschweig, v. 45, s/n, p. 28–35, 2009.

CÍCERO, S. M.; TOLEDO, F. F.; CAMPOS, H. Efeitos da fertilidade do solo sobre a produção a germinação e o vigor das sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 2, n. 1, p. 13-23, 1979.

COELHO, A. M. Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007. (Circular técnica, 96).

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v.8- Safra 2015/16 - Oitavo levantamento**. CONAB: Brasília, p. 1-178, 2016.

CUNHA, F. N.; SILVA, N. F.; BASTOS, F. J. C.; CARVALHO, J. J.; MOURA, L. M. F.; TEIXEIRA, B. M.; ROCHA, A. C.; SOUCHIE, E. D. Effect of *Azospirillum brasilense* on productivity of maize in southwest Goiás. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 13, n. 3, p. 261-272, 2014.

DIAS, M. A. N.; MONDO, V. H. V., CÍCERO, S. M. Vigor de sementes de milho associado à mato-competição. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 93-101, 2010.

DOTTO, A. P.; LANA, M. C.; STEINER, F.; FRANDOLOSO, J. F. Maize yield in response to *Herbaspirillum seropedicae* inoculation under different nitrogen levels. **Brazilian Journal of Agricultural Research**, Brasília, v. 5, n. 2, p. 376-382, 2010.

DUTRA, A. S.; VIEIRA, R. D. Envelhecimento acelerado como teste de vigor para sementes de milho e soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 715-721, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3. ed. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 306 p.

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

FANCELLI, A. L. Milho. *In*: PROCHNOW, L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. (Eds.). **Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes**. 1. ed, v. 3. Piracicaba: IPNI – Brasil, 2010. p. 39-93.

FARINELLI, R.; LEMOS, L.B. Nitrogênio em cobertura na cultura do milho em preparo convencional e plantio direto consolidados. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.42, n.1, p. 63-70, 2012.

FAROOQ, M.; BARSA, S. M. A.; WAHID, A. Priming of field-sown rice seed enhances germination, seedling establishment, allometry and yield. **Plant Growth Regulator**, v. 49, n. 2-3, p. 285-294, 2006.

GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling process. **Soil Biology Biochemical**, v. 37, n. 3, p. 395-412, 2005.

HUERGO, L. F.; MONTEIRO, R. A.; BONATTO, A. C.; RIGO, L. U.; STEFFENS, M. B. R.; CRUZ, L. M.; CHUBATSU, L. S.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense* *In*: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* sp. cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 17- 35.

HUNGRIA, M.; CAMPO. R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Crowley, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Documento n. 325).

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ – IAPAR. **Cartas climáticas do estado do Paraná**. Londrina: IAPAR, 1998.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ - IAPAR. **Cultivares de milho**. 2015. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=72>. Acesso em: 6 nov. 2015.

LANA, M. C.; DARTORA, J.; MARINI, M.; HANN, J. E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012.

LOPES, H. M.; GALVÃO, J. C. C.; DAVID, A. M. S. S.; ALMEIDA, A. A.; ARAÚJO, E. F.; MOREIRA, L. B.; MIRANDA, G. V. Qualidade física e fisiológica de sementes de milho em função da adubação mineral e orgânica. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 2, p. 265-275, 2004.

MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, São Paulo, v. 72, n. 4, p. 363-374, 2015.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. *In*: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, c. 3, p. 1-24, 1999.

MEIRE, F. A.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; ANDRADE, J. A. C. Fontes e épocas de aplicação de nitrogênio na cultura do milho irrigado. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 30, n. 2, p. 275-284, 2009.

NASCIMENTO, V. R. G.; QUEIROZ, M. R. Estratégias de aeração de milho armazenado: temperatura e teor de água. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 745-759, 2011.

OLIVEIRA, F. A.; CAVALCANTE, L. F.; SILVA, I. F.; PEREIRA, W. E.; OLIVEIRA, J. C.; COSTA FILHO, J. F. Crescimento do milho adubado com nitrogênio e fósforo em um Latossolo Amarelo. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 4, n. 3, p. 238-244, 2009.

OLIVEIRA, G. H. F.; OLIVEIRA JUNIOR, E. A.; ARNHOLD, E. Comparação de tipos de cultivares de milho quanto ao rendimento de grãos. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 29-34, 2012.

PANDOLFO, C. M.; VOGT, G. A.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; GALLOTTI, G. J. M.; ZOLDAN, S. R. Desempenho de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a doses de nitrogênio em cobertura. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 27, n. 3, p. 94-99, 2015.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento - SEAB. **Resolução nº 051**, de 18 de dezembro de 1986. Adota e aprova para Produção de Sementes Básicas, Registradas, Certificadas e Fiscalizadas as normas estabelecidas pela Resolução nº 02 de 8 de dezembro de 1986 da Comissão Estadual de Sementes e Mudanças - CESM/PR. Curitiba: SEAB, 1986.

PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Disponibilidade de nutrientes no solo - decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 911-920, 2008.

PENHA, H. G. V.; MENEZES, J. F. S.; SILVA, C. A.; LOPES, G.; CARVALHO, C. A.; RAMOS, S. J. GUILHERME, L. R. G. Nutrient accumulation and availability and crop yields following long-term application of pig slurry in a Brazilian Cerrado soil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 101, n. 2, p. 259-269, 2015.

PESKE, S. T.; MENEGHELLO, G. E. Limites, tolerâncias e padrões. **Seed News**, Cascavel, v. 17, n. 5, p. 26-32, 2013.

PESKE, S. T.; ROSENTHAL, M. D.; ROTA, G. R. M. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. Pelotas: Ed. Universitária da Universidade Federal de Pelotas. 2003. 415 p.

QUADROS, P. D. *et al.* Desempenho agrônomico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.

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

RODRIGUEZ-SALAZAR, J.; SUAREZ, R.; MELLADO, R. C.; ITURRIAGA, G. Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize plants. Federation of European Microbiological Societies (FEMS), **Microbiology Letter**, Birmingham, v. 296, n. 37, p. 52–59, 2009.

SOUZA, F. S.; FARINELLI, R.; ROSOLEM, C. A. Desenvolvimento radicular do algodoeiro em resposta à localização do fertilizante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 31, p. 387-392, 2007.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. Crop Production. **United States Department of Agriculture**, Washington, v. 1, s/n. 2015. 42 p. Disponível em: <<http://www.usda.gov/nass/PUBS/TODAYRPT/crop0915.pdf>>. Acesso em: 13 jan. 2016.

ZUCARELI, C.; PANOFF, B.; PORTUGAL, G.; FONSECA, I.C.B. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na qualidade fisiológica de sementes de milho doce. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 480-487, 2012.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os processos de produção de grãos e sementes em países em desenvolvimento, como o Brasil, necessitam de opções que permitam a exploração mais eficiente dentro das realidades econômicas e ambientais do país, conjuntura e competitividade dos mercados interno e externo.

Para que tais processos possam ocorrer segundo estes objetivos, deve-se dispor de dois alicerces: conhecimento científico e desenvolvimento de biotecnologias. O primeiro é alcançado com a formação e excelência de recursos humanos nas instituições de ensino superior e investimentos consistentes em pesquisas básicas e aplicadas que objetivem a descoberta de mecanismos dos sistemas fisiológicos dos organismos de interesse. O segundo consiste no desenvolvimento de biotecnologias, geradas obviamente a partir dos resultados obtidos com as pesquisas. Tais biotecnologias coincidem com a definição de patentes e atendem a demandas do mercado, propiciando incrementos significativos nos índices de produtividade dos sistemas e desenvolvimento de marcas com elevado valor agregado, tanto no próprio país como também no âmbito internacional.

Parte dos objetivos era descobrir qual a dose mínima que o milho necessitaria para desenvolvimento e rendimento significativos. Assim, escolheu-se utilizar a dose de 60 kg há⁻¹, pois esta é a quantidade de nitrogênio aplicada como adubação de base para o cultivo do milho. A dose de 30 kg ha⁻¹ foi escolhida para se experimentar o quanto de nitrogênio o *Azospirillum brasilense* seria capaz de suprir na demanda das plantas. No entanto, a dose aplicada não foi suficiente para representar ganhos na produtividade do milho. Assim, a adoção da prática com a dose de 30 kg ha⁻¹ não é suficiente para produção de milho esperada e o uso de fertilizantes nitrogenados (mineral ou água residuária de suinocultura) continua sendo necessário e não permite a redução da dose.

O teor de matéria orgânica do solo é outro atributo que influencia grandemente no desempenho do *Azospirillum brasilense* em fixar N, pois as bactérias utilizam a matéria orgânica como fonte de carbono para o processo de fixação. Estudos sobre as quantidades e os ganhos na produtividade ainda são necessários.

Por suas características intrínsecas o inóculo testado não oferece, possivelmente, riscos ao meio ambiente ou à saúde humana, como o uso intenso de adubos nitrogenados. No entanto, e em função do fato de que o efeito de *Azospirillum spp.* na cultura do milho e em outras culturas seja variável, nem sempre proporcionando resultados positivos em produtividade, seria interessante que fossem realizados outros experimentos com o uso

desse produto comercial, contendo *Azospirillum spp.* nas mais diversas condições de cultivo e solo, para futura recomendação de uso na agricultura.

Já no sentido de gerenciamento de resíduos e efluentes, que a água residuária de suinocultura poderá ser reaproveitada de forma adequada frente à crise hídrica em alguns estados brasileiros, conforme demonstrado por diversas técnicas, assim como nos ditames legais do Estado. O reuso de efluentes tratados na agricultura para a adubação de culturas agrícolas tem a finalidade do aproveitamento dos nutrientes presentes nas águas residuárias de suinocultura e dispô-las de maneira adequada no ambiente. Por tratar-se de técnica de disposição final e trazer benefícios para a agricultura, o aproveitamento dos efluentes da suinocultura na fertirrigação das culturas tem despertado o interesse dos agricultores, integrando sistemas de produção e reduzindo os custos com adubação e água.

O reuso da água irá diminuir o lançamento indiscriminado de dejetos não tratados em rios, lagos e no solo, dado que, quando os dejetos de suínos são incorporados, ocorre estimulação da atividade microbiana e as exigências de oxigênio por esses microrganismos superam a taxa de difusão do oxigênio atmosférico, tornando o ambiente anaeróbico. A degradação da matéria orgânica não se completa, provocando redução no pH do solo e produção de gases malcheirosos. Assim, as águas residuárias da suinocultura podem ser utilizadas em áreas de cultivo agrícola, sendo rica fonte de nutrientes. Porém, as lâminas a serem aplicadas deverão ser calculadas com base na quantidade de nutrientes e outros sais que serão incorporados no solo. A disposição de águas residuárias de animais no solo é muito usada no mundo, principalmente na Europa e nos Estados Unidos, tanto como técnica de tratamento por escoamento superficial quanto na fertilização de solos cultivados. No Brasil, ela tem sido muito usada na fertirrigação de culturas exploradas em regiões produtoras de suínos e bovinos, criados em sistema de confinamento.

Por fim, na tentativa de reduzir os custos de produção e impulsionar a agricultura, a técnica de manejo proposta neste trabalho se apresentou eficiente na evolução da produtividade, com baixo custo para implantação.