



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
CURSO DE CIÊNCIAS RURAIS**

BRUNA SORGATTO DO AMARAL

EFEITOS DA INOCULAÇÃO DO MILHO COM *Azospirillum brasilense*

**CURITIBANOS, SC
Junho/2015**

Bruna Sorgatto do Amaral

Efeitos da inoculação do Milho com *Azospirillum brasilense*

Projeto apresentado como exigência parcial da disciplina, Projetos em Ciências Rurais, do curso de Graduação em Ciências Rurais, ministrado pelos professores Julia Carina Niemeyer e Lírio Luiz Dal Vesco, sob a orientação da professora Sonia Purin da Cruz.

**Curitibanos, SC
Junho/2015**

RESUMO

A cultura do milho demanda uma grande quantidade de nutrientes, e a principal limitação para alcançar altos rendimentos está relacionada ao uso e manejo da adubação nitrogenada. Por este motivo, é necessário estudar alternativas como a fixação biológica de nitrogênio em gramíneas, que ocorre por bactérias diazotróficas. O presente trabalho terá por objetivo avaliar os efeitos da inoculação à base de *Azospirillum brasilense* sobre o crescimento do milho em função da cultivar utilizada e doses de nitrogênio. O experimento será conduzido em casa de vegetação na Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos. O delineamento adotado será o inteiramente casualizados, num esquema fatorial 2x2x2; No fator A, com duas cultivares de milho (híbrido AS 1656 PRO 3, e crioulo Catarina); no fator B, dois níveis de adubação de cobertura (50% e 100% da dose) e; no fator C, com ou sem inoculação a base de *A. brasilense*. Os parâmetros analisados aos 65 dias pós-emergência serão a altura da planta, diâmetro do colmo, produção de massa seca de parte aérea e radicular, e N-total da parte aérea. Os dados obtidos serão submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a um nível de probabilidade de 5% com auxílio do Software *Assistat*. Espera-se que com o uso do inoculante a base de *A. brasilense* aumente a produção de massa seca total, de N-total da parte aérea, diâmetro do colmo e altura do milho, utilizando uma menor dosagem de N diminuindo os custos de produção da cultura. Os resultados obtidos com esse trabalho contribuirão para a diminuição dos custos de produção, aumento do desenvolvimento e produtividade do milho na região de Curitibanos, além de gerar dados para implantação a campo e que poderão permitir uma orientação para o uso do inoculante.

Palavras Chaves: Bactérias diazotróficas; Fixação biológica de nitrogênio; Gramíneas; simbioses; *Zea mays*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
3.1 Caracterizações da Cultura de Milho	3
3.2 Importância Econômica do Milho e Produção Mundial	3
3.3 Produção de Milho no Brasil	3
3.4 Fixação Biológica de Nitrogênio	4
3.5 Primeiros Estudos do Inoculante a Base de <i>A. brasilense</i>	5
3.6 Estudos Realizados com o Inoculante a Base de <i>A. brasilense</i>	5
4. HIPÓTESE	7
5. OBJETIVOS	7
5.1 Objetivo Geral	7
5.2 Objetivos Específicos	7
6. METODOLOGIA	8
6.1 Localização do Experimento	8
6.2. Delineamento Experimental e Tratamentos	8
6.3 Condução e coleta de dados do Experimento	9
6.4. Análise Estatística	9
7. RESULTADOS ESPERADOS	10
8. CRONOGRAMA	10
9. ORÇAMENTO	11
10. REFERÊNCIAS	12
11. ANEXOS	15

1. INTRODUÇÃO

O milho apresenta significativa importância econômica no mundo, pois possui variadas formas de utilização como no consumo humano, alimentação animal, matéria prima para indústria, entre outros (GARCIA et al., 2006). Os maiores produtores mundiais de milho são os Estados Unidos, China e o Brasil. A produção dos Estados Unidos representa 36%, a China é o segundo maior produtor, representando 20% do total, e o Brasil, terceiro do mundo, representado 7,4% do total global (YAGUSHI, 2012).

No Brasil o milho é cultivado principalmente nas regiões do Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Conforme a CONAB divulgou, a produção do milho na safra 2011/12 foi de 72,73 milhões de toneladas, com destaque para 2ª safra, em que houve aumento em torno de 23% na área semeada no país (EPAGRI/CEPA, 2012). As exportações do milho em grão nos anos de 2011 para 2012 eram de 9,4 milhões de toneladas. O Irã é maior importador do milho brasileiro, que obteve do Brasil nesse ano um total de 1,33 milhões de toneladas. Em seguida, destacam-se o Egito que adquiriu 1,3 milhões de toneladas e a Coreia do Sul com 1,12 milhões de toneladas (YAGUSHI, 2012). No país, os estados que mais se destacam são o Paraná que é o maior produtor, seguido do estado de Minas Gerais, Rio Grande do Sul, São Paulo e o estado de Santa Catarina é o quinto maior produtor.

Em Santa Catarina na safra de 2012/13 teve uma diminuição na área plantada de 7,8% em relação à safra 2011/12. Como as condições climáticas foram favoráveis, houve acréscimo de 25,7% no seu rendimento médio e de 15,9% de sua produção comparada com safra anterior, que sofreu com uma longa estiagem. As maiores cidades produtoras do estado são: Canoinhas, seguido de Joaçaba, Chapecó, Curitiba, Xanxerê, Campos de Lages, São Miguel do Oeste e Concórdia.

Nas microrregiões catarinenses a uma tendência de decréscimo na área plantada praticamente em toda a região. A microrregião de Chapecó, nas safras de 2008/09 e 2012/13 teve uma diminuição de 44% de sua área plantada, com isso sua participação diminuiu 5,1%. Parte da redução na área plantada é explicada, pois os produtores de leite destinam parte das áreas plantadas de milho para a silagem, ocorreu uma perda na atratividade econômica para os produtores que possuem baixa escala de produção e mudanças no sistema de produção de suínos. Por consequência, a área plantada no Estado diminuiu consideravelmente, desde meados de 1990, foi reduzida em 577 mil hectares (EPAGRI/CEPA, 2012).

Um dos nutrientes de maior exigência para a produção do milho é o nitrogênio. Para produzir 9,20 t de grãos ha⁻¹, a cultura do milho absorve um total de 185 kg ha⁻¹ de N, onde

138 kg ha⁻¹ são exportados para os grãos e 47 kg ha⁻¹ se encontra na palhada. A adubação do milho é feita normalmente em duas fases, que seria a adubação básica e a em cobertura. A adubação básica é a NPK que é aplicada no sulco, geralmente ao mesmo tempo da semeadura. Para a adubação de cobertura recomenda-se fazer entre os estágios de V2 e V3, para que a planta tenha N disponível na fase de definição de seu potencial produtivo, que ocorre até V6 ou V8 (COELHO, 2006).

O nitrogênio é um dos nutrientes mais exigidos e de maior custo para a cultura do milho. Sua maior eficiência depende de um manejo que proporcione maior disponibilidade para as plantas. O uso desse nutriente em excesso pode causar sérios riscos ao meio ambiente, como por exemplo, pode-se citar a desnitrificação que produz N₂O e NO que aquecem a atmosfera e contribuem para o efeito estufa. Outro problema existente é a lixiviação, que ocorre a percolação de nitrato no solo até camadas onde as raízes das plantas não estão presentes, podendo alcançar o lençol freático, rios e lagoas. Nos lagos e rios pode ocorrer a eutrofização que acarreta a multiplicação excessiva de algas e bactérias que utilizam o nitrato para se desenvolver (PEIXOTO, 1999).

Diante deste cenário, buscam-se novas tecnologias para diminuir os custos de produção, tais como o uso de inoculantes microbianos à base de bactérias fixadoras de N. Essas bactérias quebram a tripla ligação que existe entre os dois átomos do N₂, transformando-o em amônia, forma utilizável de nitrogênio. Percebe-se a possibilidade do uso da fixação biológica de N para maior contribuição deste elemento também na cultura de milho, bem como em outras culturas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

2. JUSTIFICATIVA

Atualmente em Santa Catarina a produção do milho vem diminuindo consideravelmente devido a perdas na atratividade econômica. Em algumas safras, as condições climáticas não foram favoráveis para a produção de milho, e os produtores de leite destinaram as áreas de milho para a silagem.

O nitrogênio é um dos nutrientes mais exigidos e de maior custo para a cultura do milho. Para produzir 9,20 t de grãos ha⁻¹, o milho absorve um total de 185 kg de N. Quando faz a aplicação do N, recomenda-se aumentar o número de parcelamento da adubação, pois aumenta a eficiência do uso do nitrogênio e reduz as perdas. O uso em excesso pode causar vários problemas ambientais, como por exemplo, a desnitrificação, lixiviação e eutrofização.

Portanto, percebe-se que entre os nutrientes o nitrogênio desempenha um papel importante para o aumento da produção, aumento da área foliar e da massa de matéria seca. Para a região de Curitiba, ainda não se tem estudos sobre os efeitos do *A. brasilense* na cultura do milho, podendo assim, utilizar desse meio para reduzir os custos de adubação e evitar problemas futuros com a utilização em excesso de N.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Caracterizações da Cultura de Milho

A cultura do milho pertence à família Poaceae, subfamília Panicoidea, gênero *Zea*, espécie *mays* (*Zea mays L.*). A cultura do milho é uma espécie anual, apresentam sistema radicular fasciculado, é classificada no grupo das plantas C-4, possui ampla adaptação a diferentes condições de ambiente. É uma espécie alógama onde mais de 95% da fecundação é cruzada, apresentando alto nível de heterozigose. A origem é na América Central, e após a descoberta das Américas, ele foi levado pelos colonizadores e cultivado em todos os continentes, tornando-se um das culturas mais cultivadas no mundo (RURAL, 2012).

3.2 Importância Econômica do Milho e Produção Mundial

O milho é uma espécie de grande importância econômica, pois possui diversas formas de utilização. O milho é utilizado para a alimentação animal, alimentação humana, usado para a produção de biocombustível, fabricação de óleo de milho entre outros (MENEGALDO, 2011). Os maiores produtores mundiais de milho são os Estados Unidos (333,01 milhões de t), China (163,12 milhões de t) e Brasil (51,23 milhões de t). O mercado mundial de milho é abastecido basicamente por três países: Estados Unidos, Argentina e Brasil. Os principais consumidores são o Japão, Coreia do Sul, México, Egito e Taiwan (DUARTE; GARCIA; MIRANDA, 2011).

3.3 Produção de Milho no Brasil

No Brasil, o estado do Paraná é o maior produtor com mais de 50% do total da região Sul, seguido de Minas Gerais localizado no Sudeste, que juntos são líderes na produção brasileira (MENEGALDO, 2011). O milho se caracteriza por se destinar tanto para o consumo humano como por ser empregado para alimentação de animais. Em 2003, observou-

se que a produção do milho no Brasil era principalmente para a alimentação animal, representado por 69% do consumo interno e em 2010 esse percentual aumentou para 87% (DUARTE; GARCIA; MIRANDA, 2011).

A produção de milho é dividida em duas épocas de plantio. Os plantios de verão que são realizados no período chuvoso, que varia de acordo com a região. O plantio no Nordeste ocorre nos meses de janeiro e fevereiro, no Sudeste e Centro-Oeste ocorre nos meses de outubro e novembro e na região sul ocorre fins de agosto. A segunda época de plantio é a "safrinha" que é plantado nos meses de janeiro a abril na região Centro-Sul brasileira, envolvendo basicamente os estados do Paraná, São Paulo, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais (DUARTE; GARCIA; MIRANDA, 2011).

No Brasil a área cultivada vem se destacando cada vez mais, e o uso de N é indispensável. Diante deste cenário, buscam-se novas tecnologias para diminuir os custos de produção. Percebe-se a possibilidade do uso da fixação biológica de N para maior contribuição deste elemento também na cultura de milho, bem como em outras culturas. Caso não seja possível a substituição total do N, pode-se diminuir consideravelmente o uso do mesmo utilizando inoculação a base de *Azospirillum brasilense* (ARAUJO, 2008).

3.4 Fixação Biológica de Nitrogênio

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é um processo biológico realizado por bactérias que possuem um complexo enzimático chamado de nitrogenase. Essas bactérias quebram a tripla ligação que existe entre os dois átomos do N_2 , transformando em amônia (NH_3). A amônia passa por uma oxidação pelo processo de nitrificação e é convertida em nitrato, que é assimilável para as plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A fixação biológica de nitrogênio pode ser realizada por espécies nodulantes (tais como do gênero *Bradyrhizobium*, utilizadas para inoculação da soja), fixadoras assimbióticas não associativas (como *Azotobacter*, que vivem em vida livre no solo), e fixadoras assimbióticas associativas (a exemplo de bactérias do gênero *Azospirillum* que formam um sistema associativo com a planta, mas sem a formação dos nódulos). Este último grupo vem sendo estudado extensivamente em relação à sua capacidade de promover o crescimento e produtividade de espécies gramíneas e também leguminosas de interesse agrícola e florestal. O Brasil possui grandes linhas de pesquisa com o *Azospirillum*, e, hoje, está entre as lideranças mundiais em pesquisa básica com essas bactérias (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A FBN para as gramíneas é realizada pelas bactérias no interior do tecido do vegetal ou próxima às raízes. Para as gramíneas a quantidade de nitrogênio disponibilizado para culturas pela FBN é moderada, ainda não se pode usar somente ela para suprir toda a demanda de N. Porém diversas pesquisas mostram que a inoculação de gramíneas é viável (REIS JUNIOR; MENDES, 2011).

As espécies de *Azospirillum* mais estudadas para o uso de inoculantes em gramíneas são o *Azospirillum brasilense* e o *Azospirillum lipoferum*. Elas associam-se com várias gramíneas como o milho, trigo, sorgo, arroz, entre outras. Estudos com esta bactéria foram iniciados no Brasil, mas outros países já estão utilizando *Azospirillum* como Israel, África do Sul, México e, recentemente a Argentina.

3.5 Primeiros Estudos do Inoculante a Base de *A. brasilense*

A espécie *A. brasilense* foi descoberta no Brasil, no início da década de 1970 pela pesquisadora da Embrapa Agrobiologia Dra. Johanna Dobereiner. Em 1996, a Embrapa Soja e o grupo da Universidade Federal do Paraná fizeram uma parceria para realizar ensaios de laboratório e testes de eficiência agrônômica de *Azospirillum* a campo. Seguiram os critérios estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, foram testadas e selecionadas as estirpes que apresentavam maior promoção de crescimento das plantas, melhor adaptação as tecnologias nas culturas, e maior sobrevivência no solo. No período de 1976 realizaram-se 18 experimentos a campo, que foram divididos em dois conjuntos. No primeiro conjunto eram nove experimentos, onde cinco foram conduzidos para o milho em três safras. Para este experimento foram considerados os inoculantes turfosos contendo somente uma estirpe de *A. brasilense* ou *A. lipoferum*. Já para o segundo conjunto foram feitos quatro experimentos com duas estirpes de *A. brasilense* (Ab-V5 e Ab- V6) com inoculante turfoso ou líquido. Os resultados desse trabalho desenvolvido serviram como base para que as estirpes Ab-V5 e Ab -V6 de *A. brasilense* que foram recomendadas, registradas e comercializadas para a cultura do milho e trigo (HUNGRIA, 2011).

3.6 Estudos Realizados com o Inoculante a Base de *A. brasilense*

Ao longo dos anos, alguns autores testaram a inoculação com o uso do *Azospirillum brasilense* na cultura do milho não obtiveram resultados significativos independente do uso de N associado com a bactéria para analisar a produtividade e crescimento (Bartchechen et al.,

2010; Basi et al., 2011; Mendes et al., 2012; Araújo et al., 2013; Domingues Neto et al., 2013; Môro et al., 2014).

Por outro lado, estudos tanto em casa de vegetação como a campo revelaram que a inoculação do milho com *A. brasilense* para o milho consiste em uma estratégia promissora para melhorar o crescimento vegetativo e também aumentar o rendimento de grãos com o uso concomitante de adubos nitrogenados (REIS JUNIOR; MENDES, 2011).

Araújo et al. (2014), realizaram um trabalho com duração de dois anos no Piauí, a cultivar utilizada foi o híbrido AG1051. Os autores observaram que a média de massa de espigas foi maior com o uso de inoculante e a aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N. Este tratamento resultou em um aumento de 115% na variável estudada em relação à ausência de inoculante.

Hungria et al. (2010), realizaram trabalhos em duas localidades no Paraná, em Londrina e Ponta Grossa. Em Londrina, o experimento foi realizado na estação da Embrapa soja, a cultivar utilizada para o primeiro ano foi o híbrido 9486 e para o segundo ano utilizaram EMBRAPA-HD- 28X. Já em Ponta Grossa o experimento foi realizado no Serviço de Produção de Sementes Básicas da Embrapa, a cultivar utilizada para o primeiro ano foi a variedade BR 201 e EMBRAPA-HD-28X no segundo ano. Nesse estudo os resultados foram similares obtidos Londrina e Ponta Grossa. A produção de grão variou entre 443-823 kg ha⁻¹, que seria um aumento entre 16-30% em comparação com o não-inoculado.

Em Santa Catarina, alguns autores testaram a inoculação com o *Azospirillum brasilense* na cultura do milho e não obtiveram resultados significativos (Pandolfo et al., 2012; Silva et al., 2012; Parizotto, Pandolfo, 2013; Silva, 2013).

Pandolfo et al (2012), realizaram um trabalho a campo, conduzido em dois experimentos, um no município de Canoinhas, e outro em Campos Novos, com a cultivar SCS155 Catarina. Para o experimento não houve efeito da inoculação, de doses de N e da interação entre inoculação e doses de N para a variável produtividade de grãos. Em Campos Novos, a produtividade de grãos foi em média de 4.497 kg ha⁻¹. Em Canoinhas ocorreram condições mais favoráveis para a cultura e a produtividade média de grãos foi de 8.600 kg ha⁻¹.

Silva (2012), realizou um trabalho a campo no município de Lages, com as cultivares SCS Catarina e o híbrido simples P30R50H. A inoculação a base de *Azospirillum brasilense* e aplicação de nitrogênio mineral não propiciaram incrementos nos rendimentos de grãos. Nas parcelas inoculadas a média foi de 16.904,26 kg ha⁻¹, já nas parcelas sem inoculação a média foi de 17.003,89 kg ha⁻¹, não diferindo estatisticamente.

Parizotto e Pandolfo (2013), realizaram um trabalho a campo na Estação Experimental da Epagri de Campos Novos, com a cultivar SCS 154 Fortuna. Os resultados obtidos demonstram que não houve diferença significativa entre os tratamentos no rendimento de grãos da cultura do milho e no peso de mil grãos. Verificou-se que mesmo a testemunha (sem fornecimento de N) apresentou um bom rendimento (7.604 kg ha⁻¹), não diferindo estatisticamente.

Silva (2013), realizou um trabalho em casa de vegetação no município de Lages, SC, com as cultivares VPA SCS 155 Catarina e o híbrido simples P30R50H. A inoculação a base de *Azospirillum brasilense* e aplicação de nitrogênio mineral não propiciaram incrementos na massa seca radicular e de parte aérea. A massa seca radicular sem a inoculação foi de 6,3g e com a inoculação foi de 7g. Já para massa seca da parte aérea, sem a inoculação foi de 13,1 g e com a inoculação foi de 13,7g, não diferindo estatisticamente.

Percebe-se, portanto, que no Brasil não há uma uniformidade de resultados para o uso de *Azospirillum brasilense*. Para a região de Curitiba, precisam-se fazer estudos locais para poder recomendar se o uso do inoculante é viável para o local em que será implantada a cultura.

4. HIPÓTESE

O uso do inoculante a base de *Azospirillum* aumentará a produção de massa seca total, N-total da parte aérea e o crescimento do milho utilizando uma menor dosagem de N mineral, diminuindo assim os custos de produção da cultura.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

O presente projeto tem como objetivo avaliar os efeitos do uso do inoculante à base de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho.

5.2 Objetivos Específicos

- a) Testar os efeitos do inoculante a base de *Azospirillum brasilense* sobre o desenvolvimento da cultura do milho, usando duas variedades e dois níveis de adubação.

- b) Quantificar a produção de massa seca total do milho para os diferentes tratamentos;
- c) Quantificar o N-total da parte aérea do milho para os diferentes tratamentos;
- d) Avaliar altura e diâmetro dos colmos das plantas do milho.

6. METODOLOGIA

6.1 Localização do Experimento

O experimento será conduzido em casa de vegetação na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) município de Curitibanos – SC, (Latitude 27°17'05", longitude 50°32'04" e altitude 1096 m).

O clima da região, conforme a classificação de Köppen, é do tipo Cfb, isto é, mesotérmico úmido com inverno chuvoso e verão ameno, sendo a precipitação média anual 1.479,7 mm, temperatura máxima média de 22,0°C, mínima média de 12,4°C (EMBRAPA, 2006).

6.2. Delineamento Experimental e Tratamentos

O delineamento utilizado será num esquema fatorial de 2x2x2, com oito tratamentos: Fator A, duas cultivares de milho (sementes do híbrido AS 1656 PRO 3, cedido pela UFSC e do crioulo Catarina, cedida pela EPAGRI de Lages-SC), fator B dois níveis de adubação de cobertura (50% e 100% da dose recomendada) e combinado com o fator C, com e sem inoculação com *Azospirillum brasilense* (Figura 1). No tratamento com inoculação, será utilizado inoculante líquido Azo Total Max, à base de *Azospirillum brasilense*, estirpes Abv5 e Abv6, na concentração de 2×10^8 UFC ml⁻¹. A inoculação das sementes será feita a sombra no dia da implantação do experimento, as sementes serão homogeneizadas utilizando 2 ml do inoculante para 1 kg de semente. Cada parcela será constituída por 1 vaso (11 L) com 1 planta cada, arranjada de forma inteiramente casualizadas e com 6 repetições por tratamento.

Para a adubação será utilizado um adubo comercial 0-20-20 de N, P₂O₅ e K₂O, para o N será utilizado a uréia (45% de N). Para a cultura do milho precisam-se em média de 100 kg ha⁻¹ de fósforo e potássio, já para o nitrogênio precisa-se de 150 kg ha⁻¹, que seria aplicado 30 kg ha⁻¹ no plantio, aplicação de 50% da dose recomendada será de 60 kg ha⁻¹, já para a aplicação de 100% da dose recomendada será de 120 kg ha⁻¹. A adubação de cobertura será feita 15 dias após a semeadura. Porém, antes de iniciar o experimento será realizada uma análise de solo para o ajuste da adubação descrita acima.

6.3 Condução e coleta de dados do Experimento

Serão utilizados 48 vasos plásticos, com 11 litros cada. Em cada vaso será utilizado 5 kg de solo. O solo que será utilizado é classificado como cambissolo húmico alítico léptico, será coletado na trilha do pessegueirinho na Universidade Federal de Santa Catarina, no campus Curitibanos. Serão plantadas três semente por balde e após 15 dias será feito o raleio e ficará apenas uma semente por balde.

Dados de parâmetros morfológicos: Altura da planta, diâmetro do colmo, produção de massa e seca (parte aérea e raízes) e N-total da parte aérea (mg N planta^{-1}), serão coletados no estágio de florescimento da cultura que será realizada, aproximadamente, aos 65 dias de cultivo. Para a determinação da altura total da planta (cm) será utilizado uma trena a partir da superfície do solo até a bainha da folha bandeira. O diâmetro (mm) do colmo será determinado a 5 cm de altura do solo, com o uso de um paquímetro.

Para a coleta, as plantas serão separadas do solo. As raízes serão separadas da parte aérea através do corte das plantas na região do colo, as raízes serão lavadas em água corrente. Após a lavagem, a parte aérea e raízes serão acondicionadas em sacos de papel e colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar, mantendo-se a temperatura na faixa de 65°C – 70°C . O tempo de secagem será determinado por pesagens das amostras até atingir peso constante. Após a secagem, cada amostra será pesada em balança semi-analítica para estimativa da massa seca acumulada na parte aérea e raízes.

Após determinar a massa seca da parte aérea o material vegetal será finamente moído para determinar o N total de acordo com o método de Kjeldal, pelos processos de digestão sulfúrica, destilação e titulação (TEDESCO, 1995).

6.4. Análise Estatística

Os dados obtidos serão submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a um nível de probabilidade de 5% com auxílio do Software *Assistat*.

7. RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se que os resultados deste trabalho contribuam para recomendar o uso do inoculante à base de *Azospirillum brasilense*, por permitir a redução dos custos de produção, pela aplicação de uma menor dose de N e, conseqüentemente, aumento da produtividade da cultura do milho na região de Curitiba. Além de gerar dados que permitam uma melhor orientação para os agricultores com o uso do inoculante.

A partir dos resultados do experimento proposto, espera-se realizar uma etapa de avaliação em campo para avaliar outros parâmetros não avaliados em casa de vegetação tais como a produtividade total e peso de mil grãos.

8. CRONOGRAMA

Atividades	2015								2016			
	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr
Revisão Bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Implantação do Experimento	X	X	X									
Monitoramento do Experimento			X	X	X							
Coleta dos Dados					X	X	X	X				
Análise dos Dados								X	X	X	X	
Redação de Resumos e Artigos Científicos								X	X	X	X	X

9. ORÇAMENTO

Descrição	Qtd (un.)	Valor Unitário (R\$)	Valor total (R\$)
MATERIAL PERMANENTE			
Estufa de circulação forçada de ar	1	7.583,30	7.583,30
Balança semi-analítica	1	1.647,50	1.647,50
Subtotal			9.230,80
MATERIAL DE CONSUMO			
Vasos plásticos (11 L)	48	22,30	1.070,4
Milho crioulo Catarina	500g	5,00	5,00
Milho Híbrido AS 1656 PRO 3	500g	5,00	5,00
Inoculante <i>Azospirillum brasiliense</i>	1 dose	20,00	20,00
Uréia	5 kg	2,50/kg	12,50
Adubo formulado NPK – 00-20-20	5 kg	3,00/kg	15,00
Sacos de papel (5 kg)	150	0,20	30,00
Sacaria de rafia (60x1)	10	1,15	11,50
Subtotal			1.169,4
SERVIÇO DE TERCEIROS			
Serviços de análises de N total da parte aérea	48	25,00	1.200
Subtotal			
Bolsa de iniciação científica (1 bolsa x R\$ 450,00 x 12 meses)	1	450	5.400
Subtotal			5.400
TOTAL GERAL			17.000,20

10. REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, Érica de Oliveira et al. **Produtividade do milho em resposta a aplicação de nitrogênio e à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae***. XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, Florianópolis - SC, p.1-5, jul. 2013.
- ARAÚJO, Raul Matos et al. **Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio**. Ciência Rural, v. 44, n. 9, p.1556-1560, 2014.
- ARAUJO, Solon C. **Realidade e perspectivas para o uso de *Azospirillum* na cultura do milho**. Informações Agronômicas, nº122, p. 6, 2008.
- BARTCHECHEN, André. et al. **Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* na produtividade da cultura do milho (*Zea mays* L)**. Campo Digital, v.5, p.56-59, 2010.
- BASI, Simone. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. 2013. 50 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós - Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, 2013.
- YAGUSHI, Juliana Tieme. **Análise da conjuntura agropecuária – milho**. Curitiba: Secretaria da Agricultura e do Abastecimento-Departamento de Economia Rural, p. 15, 2012.
- COELHO, Antônio Marcos. **Nutrição e Adubação do Milho**. Sete Lagoas: Editoração Eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa, 2006. 10 p.
- DOMINGUES NETO, Francisco José; YOSHIMI, Francisco Kido; GARCIA, Raquel Doratiotto. **Desenvolvimento e produtividade do milho verde safrinha em resposta à aplicação foliar com *Azospirillum brasilense***. 2013. f. 11. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade de Marília, Marília, 2013.
- DUARTE, Jason de Oliveira; GARCIA, João Carlos; MIRANDA, Rubens Augusto de. **Cultivo do Milho: Economia da produção**. 2011. Embrapa milho e sorgo. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_7_ed/economia.htm>. Acesso em: 20 abr. 2015.
- GARCIA, João Carlos et al. **Aspectos Econômicos da Produção e Utilização do Milho**. Sete Lagoas: Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa, 2006. 12 p.
- HUNGRIA, Mariangela; CAMPO, Rubens. J.; SOUZA, Emanuel. M. S.; PEDROSA, Fabio. O. **Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil**. Plant and Soil, Netherlands, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.
- HUNGRIA, Mariangela. **Inoculação com *Azospirillum brasiliense*: inovação em rendimento a baixo custo**. 1ª ed. Londrina: Embrapa Soja, p. 38, 2011. (Documento 325).

EPAGRI/CEPA. **Síntese anual da agricultura de Santa Catarina, 2012/2013.**

Florianópolis. EPAGRI-CEPA, Empresa de pesquisa agropecuária e extensão rural de Santa Catarina, p. 179, 2012.

MENDES, Marcelo. Cruz et al. **Redução da Adubação em Cobertura e Associação com *Azospirillum brasilense* Aplicado Via Foliar na Cultura do Milho em Espaçamento Reduzido.** In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012, Aguas de Lindóia, SP. Anais Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012.

MENEGALDO, Jane Gonçalves. **A importância do milho na vida das pessoas.** Pelotas: Cultivar, 2011. p. 3 .

MOREIRA, Fátima Maria de Souza; SIQUEIRA, José Oswaldo. **Microbiologia e bioquímica do solo.** 2. ed. Lavras: Editora Ufla, p. 449-465, 2006.

MÔRO, Gustavo Vitti et al. **Genótipos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense*** 2014. 73 f. Tese (Doutorado em Agronomia Genética e Melhoramento de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Unesp.

PANDOLFO, Carla Maria et al. **Produtividade de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* em diferentes doses de nitrogênio, em latossolo vermelho – safra 2011/12.** 2012. In: IX Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão, 2013, Campos Novos. Resumos expandidos, 2013.

PARIZOTTO, Cirio; PANDOLFO, Carla Maria. **Rendimento de milho no sistema agroecológico submetido à inoculação com *Azospirillum brasiliense* e uréia natural.** In: IX Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão, 2013, Campos Novos. Resumos expandidos, 2013.

PEIXOTO, Claudio de Miranda. **Nitrogenado, milho produz mais.** Revista Cultivar Grandes Culturas, 10. ed. Pelotas: Cultivar, 1999. p. 1 .

REIS JUNIOR, Fábio Bueno dos; MENDES, Ieda de Carvalho. **A fixação biológica de nitrogênio e o meio-ambiente.** Pelotas: Grupo Cultivar de Publicações LTDA, 2008.

RURAL, G. **Desvio do milho para produção de combustíveis divide opiniões nos Estados Unidos.** <http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2012/04/desvio-do-milho-paraproducao-de-combustivel-divide-opinioes-nos-eua.html>. Acesso em: 28 mai. 2015.

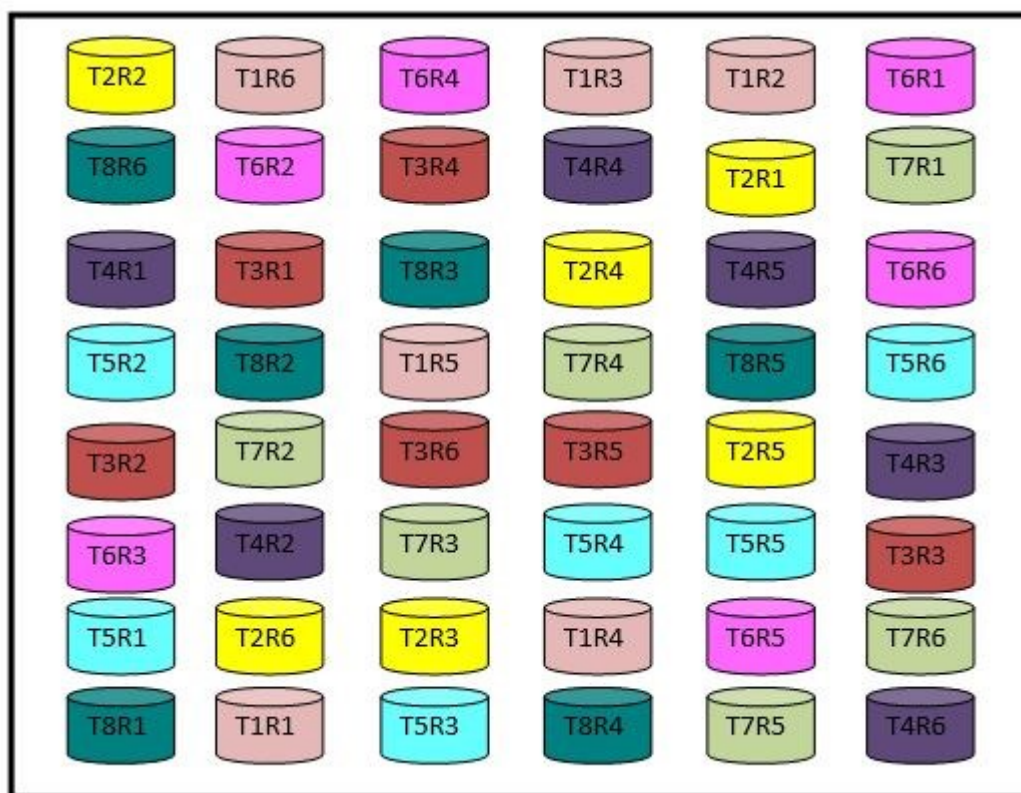
SILVA, Lígia Maria Maraschi da et al. **Tratamento de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* sob diferentes doses de N mineral em dois níveis de manejo.** 2013. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages 2013.

SILVA, Lígia Maria Maraschi da. **Desempenho agrônomico de milho em função do tratamento de sementes com *Azospirillum brasiliense* sob diferentes doses de nitrogênio mineral.** 2013. 72 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal, Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2013.

TEDESCO, Marino. José. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2^a Ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1995. 174 p.

11. ANEXOS

Figura 1. Croqui dos vasos em casa de vegetação.



- T1:** Com *Azospirillum brasilense* + 50% N + Crioulo Catarina
- T2:** Com *Azospirillum brasilense* + 100% N + Crioulo Catarina
- T3:** Sem *Azospirillum brasilense* + 50% N + Crioulo Catarina
- T4:** Sem *Azospirillum brasilense* + 100% N + Crioulo Catarina
- T5:** Com *Azospirillum brasilense* + 50% N + Híbrido AS 1656 PRO 3
- T6:** Com *Azospirillum brasilense* + 100% N + Híbrido AS 1656 PRO 3
- T7:** Sem *Azospirillum brasilense* + 50% N + Híbrido AS 1656 PRO 3
- T8:** Sem *Azospirillum brasilense* + 100% N + Híbrido AS 1656 PRO 3