

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

DAIENE CAMILA DIAS CHAVES CORSINI

COBERTURAS VEGETAIS E MODOS DE INOCULAÇÃO COM *Azospirillum*
***brasilense* EM MILHO SOBRE TRÊS SISTEMAS DE PREPARO DE SOLO**

Ilha Solteira
2018



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

DAIENE CAMILA DIAS CHAVES CORSINI

**COBERTURAS VEGETAIS E MODOS DE INOCULAÇÃO COM *Azospirillum*
brasilense EM MILHO SOBRE TRÊS SISTEMAS DE PREPARO DE SOLO**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia - UNESP –
Campus de Ilha Solteira, para obtenção do título de Doutora
em Agronomia.

Especialidade: Sistemas de Produção

Prof. Dr. Orivaldo Arf

Orientador

Prof. Dr. André Rodrigues dos Reis

Co-orientador

Ilha Solteira
2018

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

C826c Corsini, Daiene Camila Dias Chaves .
Coberturas vegetais e modos de inoculação com Azospirillum brasilense em milho sobre três sistemas de preparo de solo / Daiene Camila Dias Chaves Corsini. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2018
140 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia.
Área de conhecimento: Sistemas de Produção , 2018

Orientador: Orivaldo Arf
Co-orientador: André Rodrigues Dos Reis
Inclui bibliografia



1. Preparo do solo. 2. Zea Mays L. 3. Bactérias promotoras de crescimento de plantas. 4. Fixação biológica de nitrogênio. 5. Fisiologia. 6. Segunda safra.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

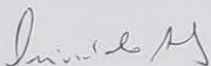
TÍTULO DA TESE: Coberturas vegetais e modos de inoculação de *Azospirillum* brasileiro em milho sobre três sistemas de preparo de solo

AUTORA: DAIENE CAMILA DIAS CHAVES CORSINI

ORIENTADOR: ORIVALDO ARF

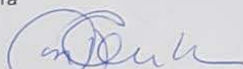
COORDENADOR: ANDRÉ RODRIGUES DOS REIS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA, especialidade: SISTEMAS DE PRODUÇÃO pela Comissão Examinadora:



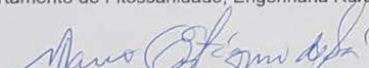
Prof. Dr. ORIVALDO ARF

Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira



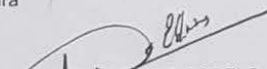
Profa. Dra. ANA MARIA RODRIGUES CASSIOLATO

Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural / UNESP / Câmpus de Ilha Solteira



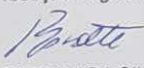
Prof. Dr. MARCO EUSTAQUIO DE SA

Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira



Prof. Dr. EVERLTON CID RIGOBELLO

Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Prof. Dr. FLAVIO FERREIRA DA SILVA BINOTTI

UEMS - Unidade Cassilândia / Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul

Ilha Solteira, 02 de julho de 2018

BIOGRAFIA DA AUTORA

Daiene Camila Dias Chaves Corsini (CORSINI, D. C. D. C.), filha do autônomo Valdecir Chaves e da Técnica em enfermagem Sueli Dias, nasceu em 30 de junho de 1988 na cidade de Ilha Solteira – SP, Brasil. Nasceu e cresceu na mesma cidade, onde cursou o ensino fundamental (1995-1998) na Escola Lúcia Maria Donato Garcia (1999-2002) e na escola Arno Hausser, e ensino médio (2003-2005) na Escola Urubupungá. No ano de 2006 fez cursinho pré-vestibular para no ano seguinte ingressar na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira no curso de Agronomia. Já no primeiro ano da graduação (2007) desenvolveu pesquisas junto ao Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia tendo como orientadora a prof Regina Maria Monteiro de Castilho, onde desenvolveu trabalhos com sementes e plantas ornamentais. No ano seguinte (2008) e até o doutorado (2018) teve como orientador o Prof Orivaldo Arf, desenvolvendo pesquisas com mecanismos de abertura de sulco de semeadura, preparo do solo, coberturas vegetais, fixação biológica de nitrogênio e bactérias promotoras de crescimento de plantas; trabalhando com várias culturas, principalmente arroz, feijão e milho. Foi bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) de Iniciação Científica de 2009 à 2011. Participou de congressos nacionais e internacionais e ganhou prêmio de terceiro melhor trabalho da área de Ciências Agrárias no XXII Congresso de Iniciação Científica da Unesp. Formou-se na 33ª Turma em fevereiro de 2012 obtendo título de Engenheira Agrônoma pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Determinada a continuar os estudos na mesma Universidade em que se graduou, iniciou em março de 2012 o curso de Mestrado em Agronomia – Sistemas de Produção, vinculado ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, concluindo-o em março de 2014, foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e Fundação Agrisus – FEALQ. No mês seguinte iniciou o curso de Doutorado em Agronomia pela mesma instituição onde foi bolsista FAPESP por 48 meses. Durante o doutorado participou de congressos científicos nacionais e internacionais, bancas examinadoras de Trabalhos de Conclusão de Curso, ministrou aulas nas disciplinas de “Agricultura Geral”, “Introdução à Agronomia” e “Cereais” do curso de graduação em Agronomia, e palestras na disciplina de “Arroz e Feijão” no curso de pós-graduação, ambas vinculadas à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Seu objetivo ao ingressar no Mestrado e Doutorado é tornar-se pesquisadora, contribuindo com o Ensino, a Pesquisa e a Extensão na área de Ciências Agrárias na formação de profissionais capacitados a exercer atividades relacionadas

com o desenvolvimento da agricultura sustentável, proporcionando acessibilidade a pequenos, médios e grandes produtores rurais.

DEDICO

Aos professores e pesquisadores que em laboratórios ou no campo, buscam soluções e
melhoria para a agricultura.

Aos agricultores, grandes, pequenos e médios, em grandes máquinas ou de mãos na enxada,
que alimentam, lutam e movem nossa nação.

Dedico e ofereço essa conquista a todos que acreditaram em meu potencial, em especial:

Aos meus avós, Rosalina e Manoel (*in memorian*), Deniza (*in memorian*) e Joaquim.

Aos meus queridos pais, Valdecir e Sueli, e meus sogros Mario e Tereza.

Obrigada pelo apoio incontestável e dedicação em todos os momentos de minha vida.

Agradeço por todo incentivo.

Ao meu esposo Mario Junior pelo amor, cuidado e total apoio em minhas escolhas.

À minha filha Laura que me fez mãe, minha companheira e alegria dos meus dias.

Meu filho Miguel que mesmo ainda dentro do meu ventre é motivo de inspiração.

Vocês são o impulso para que eu alcance e vença novos desafios.

AGRADEÇO

À Deus por todos os momentos que me fizeram chegar até aqui. Pelo fôlego de vida, pela família e amigos, por todos aqueles que passaram em minha vida e me ajudaram a crescer. Pelas dificuldades, derrotas e vitórias. Por guiar meus passos, por me guardar em cada instante da minha caminhada. Pelos milagres que pude ver e viver, e por aqueles que fizestes em oculto. Por me sustentar nos momentos de dor, dúvidas e medo; por me perdoar inúmeras vezes, pelo sim e pelo não às minhas orações. Obrigada Senhor por tamanha conquista e pelas bênçãos que certamente virão, por Sua fidelidade, mesmo quando passo dias sem Te dizer obrigada. Por me amar primeiro e por Sua grande misericórdia que me alcança todos os dias. Te agradeço Pai.

Aos meus avós, tios e primos, pelo carinho, amor e dedicação.

A minha avó Deniza (in memorian) que mesmo em pouco tempo de convivência deixou marcas profundas em minha vida. Obrigada e saudades eternas.

A minha avó Rosalina que cuidou de mim desde a infância à vida adulta, obrigada por tudo o que fez. Que Deus a recompense e abençoe sempre.

Aos meus pais, Sueli e Valdecir, que mesmo tão novos assumiram essa grande missão que é educar alguém. Obrigada pelas noites em claro, pelos puxões de orelha, pelo colo, carinho, por abdicar de muitas coisas por nós, por nos criar para sermos seres humanos do bem! A vocês minha gratidão.

Ao meu irmão Kaique, que me mostrou a primeira amizade, o dividir, o cuidar de alguém. Você é a minha melhor e mais doce lembrança da infância!

Ao meu sogro Mario e minha sogra Tereza, os quais também considero como meus pais, pela amizade, carinho, amor e companheirismo. Obrigada por me acolher na família e me ajudar a conquistar meus sonhos.

Ao meu esposo e amigo Mario Junior pelo amor e incentivo e por muitas vezes renunciar aos seus próprios sonhos para realizar os meus, você é o melhor de Deus em minha vida, muito obrigada por tudo! À minha filha Laura que me faz querer ser melhor à cada dia, me fez mãe e me ensina a apreciar o mais simples da vida, você é meu sonho realizado. Ao meu filho Miguel que ainda no meu ventre me mostrou o quanto o amor pode ser multiplicado, você transbordou nossa família de alegria. Vocês são motivos pelos quais tenho forças para lutar, minha família, meu lar, meu reino!

A todos meus professores, do jardim da infância ao ensino médio, aos que me mostraram as letras, os números, me ensinaram a escrever, a ler, as operações matemáticas, história, biologia, os conhecimentos mais aprofundados ...vocês são os grandes responsáveis pela construção de

pessoas e profissionais. Minha mais profunda gratidão!

A todas as pessoas que de uma maneira ou outra, contribuíram no desenvolvimento deste trabalho, e que mesmo não mencionados neste agradecimento sabem da sua importância em algum momento da minha vida.

Ao professor Dr. Orivaldo Arf, pelo exemplo de pessoa e profissional, íntegro, humilde e determinado. Por me orientar desde a graduação, são 10 anos de grande aprendizado. Por acreditar em mim, por toda confiança, por me permitir aprender e me proporcionar a oportunidade de questionar e investigar, pelo amor à pesquisa e a agricultura! Por fazer parte da minha vida nos momentos bons e ruins, o senhor foi um grande presente que a vida e a UNESP me trouxeram, sempre fará parte da minha vida e minhas orações.

Ao meu coorientador Dr André Rodrigues do Reis, que despertou em mim o interesse e amor pela fisiologia. Obrigada por me ensinar tanto em tão pouco tempo!

Aos professores que fazem parte do programa de Sistemas de Produção da UNESP/FEIS, pela amizade, dedicação e contribuição a minha formação acadêmica, em especial: Dr. Ricardo A. F. Rodrigues, Dr. Edson Lazarini, Dra. Ana Maria R. Cassiolato, Dr. Marcos Eustáquio de Sá, Dra Maria Aparecida Anselmo Tarsitano, João Antônio da Costa Andrade, Regina Maria Monteiro de Castilho e Heloisa Ferreira Alves do Prado. Aos professores Marcelo Minhoto de Carvalho Teixeira Filho e Dr. Salatier Buzetti que também fizeram parte da minha banca de qualificação do doutorado. Aos professores Ana Maria Rodrigues Cassiolato, Marcos Eustáquio de Sá, Everlon Cid Rigobelo e Flávio Ferreira Binotti que também fizeram parte da minha banca de doutorado.

À todos os colegas de graduação e de pós-graduação da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Ariani Garcia, Flávia Constantino Meirelles, José Roberto Portugal, Kaique Silvério, Douglas de Castilho Gitti, Amanda Peres Ribeiro, Michelle Traete Sabundjian, Amanda Paixão, Vinícius Martins, Vanessa Biazotto, Juliana Trindade Martins e Anderson Teruo, que participaram na elaboração, desenvolvimento e execução de todas as etapas da pesquisa desenvolvida.

À Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (SP), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FEIS/UNESP. Aos funcionários do Transportes, Portarias, Zeladoria e Laboratórios, obrigada pelo apoio, que é fundamental para o crescimento e desenvolvimento das pesquisas na nossa instituição.

Aos funcionários da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) da FEIS/UNESP, pelo exemplo de simplicidade e amizade e pelos esforços perante a realização deste trabalho, em especial: Alvino, Buchada, Teginho, Mazolla, Baiano, Juliano, César, Joãzinho (*in memoriam*),

Bily Gancho (*in memoriam*), Tião Carrero, Júlio, Ederson, Polako, Alexandre, Zé e João.

Aos funcionários dos departamentos DFTASE e DEFERS, por toda ajuda na condução desse e de outros trabalhos, pela amizade e dedicação, em especial: Diego, Mirian, Sandra, Selma, Márcia, Marcelo, Alexandre e a todos que contribuíram de alguma forma para essa pesquisa.

Aos funcionários do Centro de Convivência Infantil Catatau, pelo cuidado e dedicação com a minha filha, obrigada por contribuírem com a educação dela e permitirem que eu concluísse meu doutorado e pesquisas.

Aos bibliotecários da FEIS/UNESP, pela dedicação e atenção concedida.

Aos funcionários da seção de Pós-Graduação da FEIS/UNESP, pela paciência e dedicação.

À Fundação de Amparo a Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de Doutorado e ao relator dos relatórios científicos pelas sugestões dadas no decorrer do desenvolvimento do trabalho. Processo nº 2013/26489-6, Fundação de Amparo a Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP).

Muito obrigada!

Ilha Solteira, São Paulo,

Julho de 2018

Daiene Camila Dias Chaves Corsini

Deus o Abençoe, Lavrador

Lança no solo o grão. A terra é produtiva.
A semente germina e em breve há de voltar,
Em plantinha viçosa irá se transformar.
É lei da natureza amiga e evolutiva.

Deus manda a chuva e o sol que tudo move e ativa
E o vento. Então você passa a colaborar,
Extirpa a erva daninha, apressa em capinar
Até que a roça cresça exuberante e viva.

Depois vem a colheita, a safra que compensa
E abarrota os paióis, a cozinha, a despensa
E exporta pra cidade, arroz, milho, feijão...

Que Deus sempre o abençoe, honrado lavrador.
Abençoe o seu lar e todo o seu labor.
Quanto vale você para a nossa nação!

Pr. Assis Cabral (No livro Canteiros de Bálsamo)

“Porque Deus amou o mundo de tal maneira, que deu o seu Filho Unigênito, para que todo
aquele que nele crê não pereça, mas tenha a vida eterna”.

(Bíblia Sagrada, João 3:16)

CAPÍTULO I – CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DO MILHO INOCULADO COM *Azospirillum brasilense* CULTIVADO EM DIFERENTES PREPAROS DE SOLO E COBERTURAS VEGETAIS

RESUMO

Devido ao crescimento e a importância da utilização do milho segunda safra, pacotes tecnológicos que favoreçam o uso dessa nova época de cultivo para o milho são de extrema importância para a consolidação dessa safra. O manejo adequado do solo, a utilização de coberturas vegetais e considerando também os dados pouco consistentes na utilização da inoculação com bactérias promotoras de crescimento na cultura do milho, são práticas fundamentais para a busca de uma produção econômica e ambientalmente viável. Diante do exposto o objetivo desse trabalho foi o de avaliar o efeito das coberturas vegetais e dos modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* nos diferentes sistemas de preparo do solo, no desenvolvimento e produtividade do milho segunda safra. O experimento foi desenvolvido nos anos agrícolas de 2013/14 e 2014/15 em área experimental da Fazenda de Ensino e Pesquisa pertencente à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, localizada no município de Selvíria – MS. O solo do local é do tipo LATOSSOLO VERMELHO-ESCURO Epi-eutrófico álico, textura argilosa, originalmente sob vegetação de cerrado. A precipitação média anual é de 1.313 mm e a temperatura média anual de 25°C. A área teve como cultura anterior a soja, e foi constituído por três subprojetos envolvendo coberturas vegetais (*Crotalaria spectabilis*, *Urochloa ruziziensis* e *C. spectabilis* + *U. ruziziensis*), modos de inoculação com *A. brasilense* (testemunha - sem inoculação de *A. brasilense*, inoculação de *A. brasilense* nas sementes do milho, inoculação de *A. brasilense* na semente do milho e via foliar - estágio V₄ e inoculação de *A. brasilense* via foliar - estágio V₄) em três sistemas de preparo de solo (plantio direto, cultivo mínimo e cultivo convencional). Os delineamentos experimentais foram de blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas em cada tipo de preparo do solo (subprojetos), sendo constituídos por três coberturas vegetais e quatro modos de inoculação com quatro repetições. Observou-se que no subprojeto com coberturas vegetais e modos de inoculação em sistema plantio direto, as coberturas vegetais obtiveram biomassa adequada para a manutenção de palha nesse sistema; a *C. spectabilis* obteve os maiores teores de nitrogênio (N) nas plantas e N acumulado, proporcionando as plantas de milho cultivadas após essa cobertura, maior altura de inserção de espigas; as plantas de milho cultivadas após a *U. ruziziensis* apresentou um maior população de *Azospirillum* por grama de solo. No cultivo mínimo, as coberturas vegetais obtiveram biomassa adequada para a manutenção de palha; para o teor de N, a espécie *C. spectabilis* apresentou maiores médias proporcionando as plantas de

milho maior a altura de inserção de espiga, maior massa de plantas e maior população *Azospirillum* por grama de solo; a inoculação com *A. brasilense* via foliar proporcionou as plantas de milho maior massa seca de parte aérea; o modo de inoculação com *A. brasilense* proporcionou aumento da produtividade de grãos de milho quando essa foi feita nas sementes e via foliar. No sistema de preparo de solo convencional, as coberturas vegetais obtiveram biomassa adequada para a manutenção de palha, a massa seca de plantas de *U. ruziziensis* teve o maior valor médio e o maior acúmulo de N; a altura de plantas e altura de inserção de espigas foi maior quando houve a inoculação nas sementes de milho e via foliar com *A. brasilense*.

Palavras – chave: Preparo do solo. *Zea mays* L. *Urochloa ruziziensis*. *Crotalaria spectabilis*. Bactérias promotoras de crescimento de plantas. Fixação biológica de nitrogênio.

CHAPTER I – GROWTH AND PRODUCTIVITY OF INOCULATED MAIZE WITH *Azospirillum brasilense* CULTIVATED IN DIFFERENT SOIL MANAGEMENT AND COVER CROPS

ABSTRACT

Due to the growth and importance of the use of second crop maize, technological packages that enhance the use of this new maize season are extremely important for this crop consolidation. Adequate soil management, cover crops and also the inconsistent data on the use of inoculation with growth promoting bacteria in maize, are fundamental practices for the search for an economically and environmentally viable production. This study aimed to evaluate the effect of plant cover and inoculation methods with *Azospirillum brasilense* on different soil preparation systems, on the development and productivity of second crop maize. The experiment was developed in the agricultural years of 2013/14 and 2014/15 in an experimental area of the Education and Research Farm belonging to the Faculty of Engineering of Ilha Solteira - UNESP, located in the municipality of Selvíria - MS. The soil of the site is of the type RED-DARK LATOSOL Epi-eutrophic alic, clayey texture, originally under cerrado vegetation. The average precipitation cancels out is 1313 mm and the average annual temperature is 25 ° C. The area was previously cultivated with soybean, and was constituted by three subprojects involving plant cover crops (*Crotalaria spectabilis*, *Urochloa ruziziensis* and *C. spectabilis* + *U. ruziziensis*), inoculation methods with *A. brasilense* (control - without inoculation of *A. brasilense*, inoculation of *A. brasilense* on maize seeds, inoculation of *A. brasilense* on maize seed and foliar - V₄ stage and inoculation of *A. brasilense* via foliar - V₄ stage) in three soil tillage systems (no - tillage, no - tillage minimum and conventional cultivation). The experimental design was a randomized block design subdivided in each type of soil preparation (subprojects), consisting of three vegetation cover and four modes of inoculation with four replications. It was observed that in the subproject with vegetation cover and inoculation methods in no-tillage system, the vegetal cover obtained adequate biomass for the maintenance of straw in this system; *C. spectabilis* obtained the highest levels of nitrogen in the plants and N accumulated, providing the maize plants cultivated after this cover, greater height of spike insertion; maize plants grown after *U. ruziziensis* showed a larger population of *Azospirillum* per gram of soil. In the minimum cultivation, the vegetal coverings obtained adequate biomass for the maintenance of straw; for the N content, the species *C. spectabilis* showed higher mean values, giving the maize plants greater spike insertion height, larger plant mass and higher *Azospirillum* population per soil gram; the inoculation with *A. brasilense* via foliar provided the maize plants

with the highest aerial part dry mass; the form of inoculation with *A. brasilense* provided an increase in the yield of maize grains when it was made in the seeds and foliar route. In the conventional tillage system, the plant cover obtained adequate biomass for the maintenance of straw, the dry mass of *U. ruziziensis* plants had the highest average value and the highest accumulation of N; plant height and spike insertion height were higher when inoculation was carried out on maize seeds and foliar route with *A. brasilense*.

Key words: Soil preparation. *Zea mays* L. *Urochloa ruziziensis*. *Crotalaria spectabilis*. Plant growth promoting bacteria. Biological fixation of nitrogen.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DO MILHO INOCULADO COM *Azospirillum brasilense* CULTIVADO EM DIFERENTES PREPAROS DE SOLO E COBERTURAS VEGETAIS

Figura 1 -	Aspecto geral da cultura da soja. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	40
Figura 2 -	Precipitação pluvial (mm), temperatura máxima, temperatura média e temperatura mínima (°C), ocorridos durante a permanência das coberturas vegetais em 2014 e 2015 nas áreas em Sistema Plantio Direto, Cultivo mínimo e Preparo convencional do solo. Selvíria - MS, 2017.....	42
Figura 3 -	<i>Crotalaria spectabilis</i> . Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	43
Figura 4 -	<i>Urochloa ruziziensis</i> . Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	44
Figura 5 -	Consórcio entre <i>Urochloa ruziziensis</i> e <i>Crotalaria spectabilis</i> . Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	44
Figura 6 -	Vista geral das plantas de cobertura. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	45
Figura 7 -	<i>Urochloa ruziziensis</i> aos 53 DAS. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	46
Figura 8 -	<i>Crotalaria spectabilis</i> aos 53 DAS. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	46
Figura 9 -	Consórcio entre <i>Urochloa ruziziensis</i> e <i>Crotalaria spectabilis</i> aos 53 DAS, Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	47
Figura 10 -	Manejo das coberturas vegetais com rolo faca. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	47
Figura 11 -	Preparo do solo com grade pesada em Sistema convencional. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	48
Figura 12 -	Preparo do solo com escarificador em Sistema de Cultivo Mínimo. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	49
Figura 13 -	Dados climáticos durante o desenvolvimento da cultura do milho segunda safra nos anos de 2014 e 2015. Selvíria - MS, 2017.....	52
Figura 14 -	Semeadura da cultura do milho. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	53
Figura 15 -	A aplicação de <i>Azospirillum brasilense</i> via foliar. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	54

Figura 16 -	Adubação de cobertura em V ₄₋₅ . Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	54
Figura 17 -	Milho aos 82 DAE. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	55
Figura 18 -	Espiga protegida com saco impermeável para evitar ataque de pássaros Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	55
Figura 19 -	Milho no momento da colheita (140 DAE). Selvíria – MS, Brasil, 2015...	56
Figura 20 -	Milho no momento da colheita (140 DAE). Selvíria - MS, Brasil, 2015...	56
Figura 21 -	Coleta de amostra de plantas de cobertura. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	57
Figura 22 -	Coleta de amostra de plantas de cobertura. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	58
Figura 23 -	Altura de plantas de milho. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	59
Figura 24 -	Altura de inserção de espigas de milho. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	59
Figura 25 -	Diâmetro do colmo de milho. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	61
Figura 26 -	Diâmetro do colmo de milho. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	61
Figura 27 -	Espigas de milho na ocasião da colheita. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	62
Figura 28 -	Espigas de milho para análise de contagem de número de fileiras e grãos por fileira. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	63
Figura 29 -	Umidade de grãos de milho. Selvíria - MS, Brasil, 2015.....	64

Capítulo II – INFLUÊNCIA DOS MODOS DE INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* NO CRESCIMENTO DA CULTURA DO MILHO EM DIFERENTES ESTÁDIOS FENOLÓGICOS.

Figura 30 -	Aspecto do sistema radicular de plantas de milho em estágio fenológico V ₃₋₅ em plantas sem a inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> (a) e com inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> na semente (b). Selvíria, MS, 2018.....	116
Figura 31 -	Aspecto do sistema radicular de plantas de milho em estágio fenológico V ₁₁ em plantas sem a inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> (a) e com inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> na semente (b) <i>Azospirillum brasilense</i> via foliar (estádio V ₄) (c) e <i>Azospirillum brasilense</i> na semente e via foliar (estádio V ₄) (d). Selvíria, MS, 2018.....	117

Figura 32 -	Aspecto do sistema radicular de plantas de milho em estágio fenológico R ₂ em plantas sem a inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> (a) e com inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> na semente (b) <i>Azospirillum brasilense</i> via foliar (estádio V ₄) (c) e <i>Azospirillum brasilense</i> na semente e via foliar (estádio V ₄) (d). Selvíria, MS, 2018.....	118
Figura 33 -	Aspecto de plantas de milho em estágio V ₃₋₅ , sem a inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> (a) e com a inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> na semente (b). Selvíria, MS, 2018.....	121
Figura 34 -	Aspecto de plantas de milho em estágio V ₁₁ , sem a inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> (a), com a inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> na semente (b), <i>Azospirillum brasilense</i> via foliar (estádio V ₄) (c) e <i>Azospirillum brasilense</i> na semente e via foliar (estádio V ₄) (d). Selvíria, MS, 2018.....	121
Figura 35 -	Aspecto de plantas de milho em estágio R ₂ , sem a inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> (a), com a inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> na semente (b), <i>Azospirillum brasilense</i> via foliar (estádio V ₄) (c) e <i>Azospirillum brasilense</i> na semente e via foliar (estádio V ₄) (d). Selvíria, MS, 2018.....	122

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DO MILHO INOCULADO COM *Azospirillum brasilense* CULTIVADO EM DIFERENTES PREPAROS DE SOLO E COBERTURAS VEGETAIS

Tabela 1 -	Histórico da área experimental durante os anos agrícolas 2008/09, 2009/10, 2010/11, 2011/12, 2012/13, 2013/14 e 2014/15. Selvíria - MS, Brasil, 2017.....	41
Tabela 2 -	Massa seca de plantas (MSP), nitrogênio de plantas (NP) e nitrogênio acumulado em coberturas vegetais cultivadas em Sistema Plantio Direto. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	66
Tabela 3 -	Valores médios de altura de plantas de milho (AP), altura de inserção da primeira espiga (AE) e diâmetro do colmo (DC) de plantas de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado em Sistema Plantio Direto. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	67
Tabela 4 -	Valores médios de massa de plantas de milho (MPM), número de fileiras de grãos em espiga de milho (NFG) e número de grãos por fileiras em espiga de milho (NGF) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado em Sistema Plantio Direto. Selvíria - MS, 2014 e 2015..	68
Tabela 5 -	Valores médios de números de grãos por espiga de milho (GE), massa de espiga de milho (ME) e valores médios de massa de cem grãos (MG) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado em Sistema Plantio Direto. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	69
Tabela 6 -	Desdobramento da interação entre inoculação de plantas de milho e coberturas vegetais na massa de cem grãos de milho em função de modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> e coberturas vegetais em sistema plantio direto. Selvíria - MS, 2015.....	70
Tabela 7 -	Valores médios de nitrogênio foliar de milho e número mais provável de bactérias diazotróficas associativas na rizosfera da planta de milho (NMP) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado em Sistema Plantio Direto. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	71

Tabela 8 -	Valores médios de população final de plantas de milho e produtividade de grãos de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado em Sistema Plantio Direto. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	72
Tabela 9 -	Massa seca de plantas (MSP), nitrogênio de plantas (NP) e nitrogênio acumulado em coberturas vegetais cultivadas em Sistema Cultivo mínimo do solo. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	73
Tabela 10 -	Valores médios de altura de plantas de milho (AP), altura de inserção da primeira espiga (AE) e diâmetro do colmo (DC) de plantas de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado em Sistema Cultivo mínimo do solo. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	74
Tabela 11-	Valores médios de massa de parte aérea de plantas de milho (MPM), número de fileiras de grãos em espiga de milho (NFG) e número de grãos por fileiras em espiga de milho (NGF) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado em Sistema Cultivo mínimo do solo. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	75
Tabela 12 -	Valores médios de números de grãos por espiga de milho (GE), massa de espiga de milho (ME) e valores médios de massa de cem grãos (MG) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado em Sistema Cultivo mínimo do solo. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	76
Tabela 13 -	Valores médios de nitrogênio foliar de milho e número mais provável de bactérias diazotróficas associativas na rizosfera da planta de milho (NMP) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado em Sistema Cultivo mínimo do solo. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	77
Tabela 14 -	Desdobramento da interação entre inoculação de plantas de milho e coberturas vegetais no número mais provável de bactérias diazotróficas associativas na rizosfera da planta de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em Sistema Cultivo mínimo do solo. Selvíria - MS, 2015.....	78
Tabela 15 -	Valores médios de população final de plantas de milho e produtividade	

	de grãos de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado em Sistema Cultivo mínimo do solo. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	79
Tabela 16 -	Massa seca de parte aérea de plantas (MSP), nitrogênio de plantas (NP) e nitrogênio acumulado em coberturas vegetais cultivadas em Sistema Convencional de preparo solo. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	81
Tabela 17 -	Valores médios de altura de plantas de milho (AP), altura de inserção da primeira espiga (AE) e diâmetro do colmo (DC) de plantas de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado Sistema Convencional de preparo solo Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	82
Tabela 18 -	Valores médios de massa de plantas de milho (MPM), número de fileiras de grãos em espiga de milho (NFG) e número de grãos por fileiras em espiga de milho (NGF) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado Sistema Convencional de preparo solo. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	83
Tabela 19 -	Valores médios de números de grãos por espiga de milho (GE), massa de espiga de milho (ME) e valores médios de massa de cem grãos (MG) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado Sistema Convencional de preparo solo. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	85
Tabela 20 -	Valores médios de nitrogênio foliar de milho e mais provável de bactérias diazotróficas associativas na rizosfera da planta de milho (NMP) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado Sistema Convencional de preparo solo. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	86
Tabela 21 -	Valores médios de população final de plantas de milho e produtividade de grãos de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> em milho segunda safra cultivado Sistema Convencional de preparo solo. Selvíria - MS, 2014 e 2015.....	87

Capítulo II – INFLUÊNCIA DOS MODOS DE INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* NO CRESCIMENTO DA CULTURA DO MILHO EM DIFERENTES ESTÁDIOS FENOLÓGICOS.

Tabela 22 -	Médias do comprimento da raiz principal (CRP) e massa de raiz principal de plantas de milho segunda safra em diferentes fases fenológicas das plantas inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	112
Tabela 23 -	Médias do número de raízes adventícias em plantas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos das plantas inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	113
Tabela 24 -	Médias do teor de nitrato (NO_3^-) ($\mu\text{g/g}$ MF) em raiz de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos das plantas inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	114
Tabela 25 -	Médias do conteúdo de aminoácidos (AA) (mg/g MF) e teor de amônio (NH_4^+) (mg/g MF) em raiz de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	115
Tabela 26 -	Médias do conteúdo de açúcares totais (AT) (mg/g MF) e sacarose (SA) (mg/g MF) em raiz de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	116
Tabela 27 -	Médias do comprimento da parte aérea (CPA) e massa parte aérea (MPA) de plantas de milho segunda safra em diferentes fases fenológicas das plantas inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	119
Tabela 28 -	Médias do diâmetro de colmo (DC) e número de folhas (NF) de plantas de milho segunda safra em diferentes fases fenológicas das plantas inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018..	120
Tabela 29 -	Médias da atividade da redutase do nitrato (RN) ($\mu\text{mol NO}_2^-/\text{g MF ha}^{-1}$) e teor de nitrato (NO_3^-) ($\mu\text{g/g}$ MF) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	123

Tabela 30 -	Médias do conteúdo de clorofila A (CA) (µg/ml) e conteúdo de clorofila B (CB) (µg/ml) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	124
Tabela 31 -	Médias do conteúdo de clorofila total (CT) (µg/ml) e conteúdo de carotenóides (CD) (µg/ml) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	125
Tabela 32 -	Médias do conteúdo de feofitina total (FT) (µg/ml) em folhas de milho segunda safra em diferentes fases fenológicas das plantas inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	126
Tabela 33 -	Médias do conteúdo de açúcares totais (AT) (mg/ g MF) e conteúdo de sacarose (SA) (mg/ g MF) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	127
Tabela 34 -	Médias do conteúdo de aminoácidos (AA) (mg/ g MF) e teor de amônio (NH ₄ ⁺) (mg/ g MF) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	128
Tabela 35 -	Teores de nitrogênio (N) (g/ kg) e fósforo (P) (g/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	129
Tabela 36 -	Teores de potássio (K) (g/ kg) e cálcio (Ca) (g/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	130
Tabela 37 -	Teores de magnésio (Mg) (g/ kg) e enxofre (S) (g/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	131
Tabela 38 -	Teores de boro (Bo) (mg/ kg) e cobre (Cu) (mg/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	132
Tabela 39 -	Teores de ferro (Fe) (mg/ kg) e manganês (Mn) (mg/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	133

Tabela 40 -	Valores médios de assimilação de CO ₂ (A) e concentração intercelular de CO ₂ (Ci) em plantas de milho segunda safra em fase fenológica V ₁₁ inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	134
Tabela 41 -	Valores médios de condutância estomática (Gs) e transpiração (E) em plantas de milho segunda safra aos 30 dias após a semeadura inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	135
Tabela 42 -	Conteúdo de albumina (AL) (mg/ g MS), globulina (GB) (mg/ g MS), prolamina (PR) (mg/ g MS) e glutelina (GL) (mg/ g MS) em grãos de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Selvíria, MS, 2018.....	136

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DO MILHO INOCULADO COM *Azospirillum brasilense* CULTIVADO EM DIFERENTES PREPAROS DE SOLO E COBERTURAS VEGETAIS

1	INTRODUÇÃO.....	27
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	30
2.1	MILHO SEGUNDA ÉPOCA.....	30
2.2	MANEJO DO SOLO.....	31
2.3	COBERTURAS VEGETAIS.....	34
2.4	<i>Azospirillum brasilense</i>	37
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.1	ÁREA EXPERIMENTAL.....	40
3.2	CARACTERIZAÇÃO DO CLIMA E SOLO.....	41
3.3	INSTALAÇÃO DAS COBERTURAS VEGETAIS.....	43
3.4	MANEJO DO SOLO.....	48
3.5	SUBPROJETOS.....	49
3.5.1	Tratamentos e delineamento experimental.....	49
3.6	AVALIAÇÕES.....	57
3.6.1	Coberturas vegetais.....	57
3.6.2	Milho segunda safra.....	57
4	RESULTADOS E DICUSSÃO.....	65

5	CONCLUSÕES.....	88
	REFERÊNCIAS.....	90
 Capítulo II – INFLUÊNCIA DOS MODOS DE INOCULAÇÃO COM <i>Azospirillum brasilense</i> NO CRESCIMENTO DA CULTURA DO MILHO EM DIFERENTES ESTÁDIOS FENOLÓGICOS.		
6	INTRODUÇÃO.....	103
7	REVISÃO DE LITERATURA.....	104
8	MATERIAL E MÉTODOS.....	106
8.1	CARACTERIZAÇÃO DO CLIMA E DO SOLO.....	106
8.2	ANÁLISES.....	107
8.2.1	Análises biométricas.....	107
8.2.2	Análises fisiológicas.....	108
8.2.3	Análises nutricionais.....	109
8.2.4	Análise estatística.....	110
9	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	112
10	CONCLUSÕES.....	137
	REFERÊNCIAS.....	138

1 INTRODUÇÃO

O milho é um cereal de grande importância para o agronegócio mundial, por ser utilizado como o principal insumo na fabricação de ração animal, matéria-prima para inúmeros processos da indústria e pelo aumento da produção nos Estados Unidos da América, onde é empregado na fabricação de etanol.

O cenário do milho segunda safra nos últimos anos tem se modificado, visto que na década de 1980, era pouco representativo, associado a baixas produtividades. Porém, devido ao alcance de avanços tecnológicos, tornou-se uma das culturas com maior crescimento em produtividade e expansão de área cultivado no Brasil. Tem sido cultivado geralmente após a soja precoce, onde tem sido considerado a safra principal para muitos produtores.

Considerando também o elevado custo da adubação nitrogenada, prejuízos com a perda de nitrogênio (N) e os dados pouco consistentes na utilização da inoculação com bactérias promotoras de crescimento na cultura do milho, tecnologias que otimizem a utilização do *Azospirillum* spp. nessa cultura é fundamental para a busca de uma produção econômica e ambientalmente viável (KANEKO et al., 2016).

De acordo com Hungria et al. (2010), o alto custo de fertilizantes químicos e as preocupações sobre uma agricultura menos poluente e mais sustentável levaram a um interesse crescente no uso de inoculantes contendo bactérias que promovam o crescimento da planta e aumentam a produtividade da cultura.

Na literatura existem vários trabalhos confirmando que o *Azospirillum* produz fitohormônios que estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas (HUNGRIA, 2011). Segundo a mesma autora, o maior desenvolvimento das raízes pela inoculação com *Azospirillum* pode implicar em vários outros efeitos. Já foram relatados incrementos na absorção da água e minerais, maior tolerância a estresses como salinidade e seca, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (HUNGRIA, 2011).

No entanto quanto ao uso de bactérias do gênero *Azospirillum*, os dados ainda são inconsistentes, sabe-se que há a atuação das bactérias e que são benéficas para a cultura, porém esse fato não está bem explícito nos dados, principalmente de produtividade, presentes na literatura; a via de inoculação portanto, pode influenciar a atuação da bactéria na planta e pode possibilitar ao produtor a escolha da via a ser empregada, e podendo utilizar sementes já produzidas pronta para a semeadura sem a adição de qualquer tratamento

(realidade das mais importantes produtoras de sementes).

Já para o manejo físico, químico e biológico do solo, tem sido preconizado o sistema de rotação de culturas. Do ponto de vista da física do solo, tem-se estimulado a adoção da rotação de culturas para manter e/ou aumentar os teores de matéria orgânica, criar poros biológicos, melhorar a estrutura e manter palha suficiente na superfície do solo (ANDRADE; STONE; SILVEIRA, 2009).

Algumas pesquisas realizadas (POSSAMAI et al., 2001; OLIVEIRA; CARVALHO; MORAES, 2002; ANDRADE; STONE; SILVEIRA, 2009) já demonstraram que a escolha do manejo de solo e a utilização de coberturas vegetais, tanto para garantir a sustentabilidade do solo como a melhoria do mesmo, é decisiva ao aumento ou decréscimo da produtividade da cultura do milho, tanto na primeira como na segunda safra, sendo fundamental a escolha adequada de qual tecnologia utilizar

Andrade, Stone e Silveira (2009) ressaltaram dizendo que os sistemas com rotação ou sucessão de culturas podem ter variações na agregação do solo, de acordo com as diferenças nas espécies de plantas; a definição de espécies com elevada produtividade de fitomassa para cobertura do solo é um dos fatores de sucesso desse sistema (OLIVEIRA; CARVALHO; MORAES, 2002).

O manejo do solo e utilização de coberturas vegetais, que são diferentes de acordo com a realidade de cada área produtora, pode definir o sucesso da cultura.

Na cultura do milho, os resultados referentes aos diferentes manejos do solo são bastante diversificados. Maiores rendimentos de milho no sistema plantio direto, em relação a outros sistemas de manejo do solo, foram relatados por Possamai et al. (2001), e menores, por Fancelli e Favarin (1989).

Para a manutenção de altas produtividades por um tempo ilimitado, é necessário que as diferentes práticas de manejo do solo mantenham as características físicas, químicas e biológicas do solo. A utilização do sistema plantio direto se tornou atualmente uma ferramenta sustentável para conservação do solo e recursos hídricos nos países de clima tropical. No entanto, o cultivo convencional do solo pelo revolvimento superficial por implementos como grades e arados, é uma realidade, especialmente em áreas degradadas ou com problemas de compactação do solo.

Assim, objetivou-se avaliar o efeito das três coberturas vegetais (*Urochloa ruziziensis*, *Crotalaria spectabilis*, *U. ruziziensis* + *C. spectabilis*) e quatro modos de inoculação de *Azospirillum brasilense* (sem inoculação – testemunha, semente, semente e via

foliar V_4 , e via foliar V_4) no desenvolvimento e produtividade do milho segunda safra cultivado em três sistemas de manejo do solo (sistema plantio direto, sistema cultivo mínimo e sistema de preparo convencional do solo).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MILHO SEGUNDA SAFRA

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais importantes cultivados e consumidos no mundo, devido ao seu potencial produtivo, composição química e valor nutritivo (GAZOLA et al., 2014). Além de ter importância no agronegócio, é base de sustentação para a pequena propriedade, constituindo-se, também, num dos principais insumos do complexo agroindustrial, além disso, a cultura representa um importante papel na rotação de culturas, no sistema semeadura direta (QUADROS et al., 2014).

Atualmente, a cultura do milho segunda safra no Brasil ocupa uma área de 11,4 milhões hectares, dos 16,4 milhões de ha da área total (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2018). Na safra de 2017/18, o Brasil produziu 87.279,0 mil t de grãos de milho, sendo que a primeira safra atingiu 25.121,2 mil t de grãos, 28,8% da produção total de milho, e a segunda safra com 62.158,1 mil t de grãos de milho, 71,2% da produção total de milho (CONAB, 2018).

Até meados de 1978/79, a segunda época de plantio do milho, praticamente não existia, era semeado principalmente após a soja precoce, o que ainda acontece atualmente, após a colheita do feijão “das águas” e semeado nas entrelinhas da própria cultura do milho da safra normal (CRUZ et al., 2013). Geralmente é caracterizado pelo cultivo em sequeiro, com semeadura realizada nos meses de janeiro a abril, após a cultura do verão (CRUZ et al., 2013).

O grande incremento do milho segunda safra foi atribuído principalmente à necessidade de milho para o uso na propriedade, assim, com o sucesso dessa nova época de semeadura houve o aparecimento de muitos seguidores do processo (CRUZ et al., 2013) e consequente aumento do cultivo comercial da cultura nessa safra.

Historicamente é associado a uma cultura de risco, aliado ao aumento da demanda mundial e valorização dessa commodity, porém a realização de mudanças no manejo adequado e em investimento em procedimentos, como híbridos responsivos ao padrão tecnológico, tem aumentado cada vez mais a área de semeadura do milho segunda safra, que historicamente é associado a uma cultura de risco (SCHUELTER; BRENNER, 2009), devido ao ambiente típico dessa safra, como risco de geadas, déficit hídrico e diminuição de fotoperíodo (BOLSON et al., 2016).

A utilização da segunda safra do milho possibilita o cultivo de mais de uma cultura de

grãos por ano na mesma área, como é o caso da sucessão com a soja, fazendo com que o Brasil seja um dos poucos países capaz dessa prática, revelando a importância desse sistema de produção de grãos para a agricultura (CONAB 2009; ADEGAS; VOLL; GAZZERO, 2011).

Porém, por outro lado, a produção contínua de soja e milho safrinha pode não ser sustentável, principalmente por problemas com o manejo do solo relativos à baixa cobertura com palha e à redução do teor de matéria orgânica, que aumentam a suscetibilidade à erosão hídrica e às perdas de água por evaporação, resultando em maior compactação do solo (BEUTLER; CENTURION, 2004).

Muitos produtores optaram pelo cultivo do milho safrinha, devido a rentabilidade que a cultura oferece, e pela produção de palhada na área para o sistema plantio direto. Isto possibilita o melhor controle de plantas daninhas, a melhoria da fertilidade e a maximização do uso do solo e melhor aproveitamento de máquinas e da mão de obra da propriedade, assim, tornou-se uma atividade rentável, com adoção de alta tecnologia nas propriedades rurais, resultando assim em altos rendimentos (SILVA; FRANCISCHINI, 2013).

Sucesso tão importante tem sido possibilitado, entre outros fatores, pelo aporte de conhecimento e tecnologias providos pelas entidades brasileiras de pesquisa agrícola. É preciso, porém, investir em procedimentos para redução de custos, mantendo a produtividade.

2.2 MANEJO DO SOLO

O solo é componente essencial de agroecossistemas e deve ser encarado como uma commodity ambiental, de modo que sua capacidade produtiva e sua qualidade devem ser mantidas e/ou melhoradas (CHRISÓSTOMO et al., 2006).

Para Darnardin et al. (2014) o solo atua como elemento de disponibilização de água e nutrientes e de suporte das plantas, onde as mesmas se desenvolvem, assim se torna determinante na produtividade do sistema produtivo em função da limitação de sua fertilidade.

A utilização do solo tem sido intensificada para aumentar a renda dos agricultores e a oferta de alimentos e matérias primas, assim há um maior número de cultivos por ano. O manejo do solo é definido pelo conjunto de diferentes práticas associadas para torná-lo apto ao desenvolvimento pleno de uma atividade (BERTOL et al., 2014); visa manter as características físicas, químicas e biológicas do solo, proporcionando obtenção de altas produtividades por tempo ilimitado. Suas propriedades físicas, químicas e biológicas; bem

como processos relacionados a elas, devem ser preservados de maneira que o solo seja capaz de prover meio para o crescimento das plantas; de regular a distribuição da água no ambiente e de servir como um tampão ambiental na formação, atenuação e degradação de produtos danosos ao ambiente (SANTANA; BAHIA FILHO, 1998; SCHOENHOLTZ et al., 2000; citado por CHRISÓSTOMO et al., 2006).

Segundo Bertol et al. (2014), a adoção de qualquer uma das operações ou procedimentos de manejo para atender às exigências da cultura a ser implantada, só deve acontecer se o solo estiver necessitando, pois, a modificação de uma única operação ou procedimento de manejo pode implicar na modificação do sistema como um todo. Com isso há uma maior produtividade por área, principalmente quando se adotam tecnologias apropriadas, como melhor manejo do solo e tratamentos culturais adequados para cada tipo de solo e cultura (FERREIRA, 1997).

O desenvolvimento de novas tecnologias de manejo do solo e das culturas interfere na produção agrícola mundial que triplicou nos últimos 50 anos, onde a principal preocupação é a sustentabilidade dessa produção (MALUF et al., 2015).

De acordo com Oliveira et al. (2013), no solo, existem diversas inter-relações entre os atributos físicos, químicos e biológicos que controlam os processos e os aspectos relacionados à sua variação no tempo e no espaço. O manejo e uso do solo sem prévia avaliação dos seus potenciais e limitações, tem sido o motivo da degradação de recursos naturais, como o solo e a água (PAULINO, 2013).

Portanto é de grande importância a identificação e/ou desenvolvimento de sistemas de manejo de solo que se adequem às condições edafoclimáticas de cada região (COSTA et al., 2003). Assim, qualquer alteração no solo pode alterar diretamente sua estrutura e sua atividade biológica e, conseqüentemente, sua fertilidade, com reflexos nos agroecossistemas (CARNEIRO et al., 2009), podendo promover prejuízos à qualidade do solo e à produtividade das culturas. Com isso, a variação desses atributos, determinada pelo manejo e uso do solo, são importantes para o melhor manejo visando à sustentabilidade do sistema (OLIVEIRA et al., 2013).

As operações que definem o preparo do solo visam a alteração no suprimento de nutrientes, alterações físicas e melhoria no armazenamento de água (PAULINO, 2013). Segundo Lisboa et al. (2012) o solo é influenciado pelos sistemas de culturas no que se refere à disponibilidade de nutrientes, profundidade de exploração radicular, quantidade e qualidade dos resíduos vegetais aportados. E isso será fator de definição para a fertilidade, matéria orgânica e

macro e microrganismos no solo. Gerando assim um ambiente favorável ao crescimento radicular e consequentemente desenvolvimento e produtividade das culturas (PAULINO, 2013).

O grau de mobilização e a forma de disposição dos resíduos vegetais no solo são os fatores que diferem entre os sistemas de preparo do solo (LISBOA et al., 2012).

O sistema de plantio convencional se caracteriza pelo revolvimento do solo permite o rompimento dos agregados, através da aração e gradagem, e também leva a uma pulverização da camada arável do solo e a uma compactação da camada subsuperficial (ROCHA et al., 2008). Promovendo assim maior contato entre os resíduos vegetais com o solo (DADALTO et al., 2015), o que leva a uma rápida decomposição dos resíduos vegetais.

No entanto, o cultivo convencional do solo pelo revolvimento superficial por implementos como grades e arados, é uma realidade, especialmente em áreas degradadas ou com problemas de compactação do solo. Assim, uma das principais dificuldades encontrada em tais áreas se refere à manutenção da palhada sobre a superfície do solo, dadas às estações bem definidas, com precipitação concentrada na primavera/verão, dificultando a produção de fitomassa na entressafra, e com altas temperaturas acelerando a decomposição da palhada (CASSÁN et al., 2008).

Atualmente a utilização do sistema plantio direto se tornou uma ferramenta sustentável para conservação do solo e recursos hídricos nos países de clima tropical. No entanto, o cultivo convencional do solo pelo revolvimento superficial por implementos como grades e arados, é uma realidade, especialmente em áreas degradadas ou com problemas de compactação do solo.

O Brasil possui, aproximadamente, 57,9 milhões de hectares destinados à produção de grãos no país, safra 2014/15 (CONAB, 2016) sendo metade dessas áreas, cerca de 32 milhões de hectares, em sistema plantio direto (FEDERAÇÃO BRASILEIRA DE PLANTIO DIRETO NA PALHA - FEBRAPDP, 2012).

Possamai et al. (2001), avaliando diferentes sistemas de preparo do solo para o cultivo do milho safrinha, verificaram que o sistema plantio direto proporciona menor número de dias para florescimento, maiores populações de plantas, maior diâmetro de colmo, maior altura de plantas, maior altura de inserção da primeira espiga, maior número de espigas por hectare, maior índice de espigas de milho e maior produtividade; e que o florescimento antecipado das plantas de milho na semeadura direta resultou das melhores condições climáticas para o estabelecimento e posterior desenvolvimento da cultura (POSSAMAI et al.,

2001). Sistemas de manejo que condicionam aumentos em atributos biológicos associados à biomassa microbiana proporcionam incremento na ciclagem de nutrientes e energia no sistema solo (CUNHA et al., 2011).

Contudo, o solo sob sistema plantio direto, após alguns anos tem demonstrado problemas de compactação subsuperficial, os quais se agravam pelo mínimo revolvimento do solo (ROSA et al., 2011). A redução da macroporosidade e porosidade total do solo é consequência do aumento da densidade do solo e da microporosidade, causado em algumas áreas pelo uso contínuo desse sistema de preparo do solo (SILVEIRA; STONE, 2003). Assim tem-se utilizado em áreas com esses problemas o cultivo mínimo, que é definido pelo mínimo revolvimento do solo e utilizado geralmente o escarificador com hastes com profundidade de trabalho com mais de 30 cm e grade à profundidade aproximada de 10 cm, respectivamente.

Nas regiões tropicais e subtropicais, a diminuição do potencial produtivo dos solos agrícolas tem sido atribuída, principalmente, aos processos de erosão e decomposição da matéria orgânica do solo (SÁ et al., 2001 citado por BAYER et al., 2004). Os sistemas de manejo do solo afetam suas características físicas e químicas, interferindo assim no desenvolvimento e na produtividade das culturas.

Contudo tem-se que os sistemas de preparo do solo que visam um manejo conservacionista têm melhor reflexo na qualidade do solo pois sustentam a matéria orgânica do mesmo (ISLAM; WEIL, 2000), além da conservação e/ou melhoria dos atributos físicos e químicos do solo, o manejo consciente gera benefícios pra todo meio ambiente afetado pela prática agrícola.

2.3 COBERTURAS VEGETAIS

A indicação sistemática de plantas de cobertura associada a um sistema de rotação e de sucessão de culturas diversificadas, é uma importante estratégia para o acúmulo de palhada na superfície do solo, principalmente nas regiões de cerrado (WUTKE et al., 2014).

Segundo Chrisóstomo et al. (2006) o aporte contínuo de resíduos vegetais na superfície do solo e, por consequência, de carbono e de nitrogênio, contribuem significativamente para a melhoria da qualidade do solo; a recuperação do teor de matéria orgânica do solo pode ser obtida pelo uso de sistemas conservacionistas de produção agrícola, que reduzem o revolvimento do solo e pela adoção de sistemas de rotação de culturas com alto aporte de resíduos ao solo.

Para os sistemas de produção, a produção de fitomassa é imprescindível, pois protege o solo da erosão, contribui para melhoria da fertilidade, aumenta a infiltração e disponibilidade de água para as plantas, minimizando os impactos ao ambiente (ANDRIOLI et al., 2008).

De acordo com Maluf et al. (2015), para concepção de eficientes manejos, envolvendo resíduos culturais em áreas agrícolas, é preciso conhecer os fatores que envolvem a decomposição, as transformações de carbono, bem como a transferência de nutrientes para o solo de diferentes tipos de resíduo vegetal, com características químicas e bioquímicas distintas, sejam provenientes de plantas cultivadas para fins comerciais, produção de grãos, ou para manejo como plantas de cobertura.

A palha é o principal componente da camada superficial do solo, sua contribuição para a formação de substratos abaixo da camada superficial do solo é muito pequena, sendo assim, em horizontes mais profundos, a exsudação de raízes e a decomposição de raízes mortas é relativamente mais importante (HECKLER; SALTON, 2002), o que ressalta a importância da escolha da espécie ou espécies que serão utilizadas na área.

A inclusão de leguminosas em sistemas agrícolas é uma estratégia que deve ser avaliada em relação ao seu efeito nos estoques de matéria orgânica do solo (CUNHA et al., 2011). Rodrigues et al. (2008), complementam dizendo que as leguminosas se destaca devido a fixação biológica de nitrogênio, o que poderá levar a uma economia de fertilizantes nitrogenados, além de possuírem grande rendimento por área, sistema radicular profundo, que ajuda descompactar o solo; além disso, apresentam baixa relação C/N, quando comparadas a plantas de outras famílias; este aspecto aliado a grande presença de compostos solúveis, favorece sua decomposição e mineralização por microrganismos do solo e a reciclagem de nutrientes.

O aporte de nutrientes e a taxa de mineralização mais rápida das leguminosas, tornam a palhada dessas plantas mais atrativas para a composição de um sistema de rotação de culturas, porém é importante considerar que em condições tropicais é interessante manter ou aumentar os níveis de matéria orgânica do solo; isto somente pode ser conseguido com uma produção adequada de palha e que tenha uma boa reciclagem de nutrientes (RODRIGUES et al., 2008).

A *Crotalaria spectabilis* é uma espécie de leguminosa que geralmente é semeada na primavera/verão podendo ter sua semeadura estendida até março/abril em áreas sem risco de geada, é considerada má hospedeira de nematoides formadores de galhas, além de contribuir

para o aumento de população de microrganismos inibidores dos nematoides devido a produção de matéria orgânica; produz de 4 a 6 toneladas de massa seca por hectare, com uma biomassa com relação carbono/ nitrogênio com valor 18 e pode fixar até 120 kg de nitrogênio por hectare por ano (WUTKE et al., 2014).

Em pesquisa realizada por Bayer et al. (2003), avaliando o efeito da introdução de leguminosas estivais em sistemas de produção de milho nos estoques de carbono orgânico e nitrogênio total de um Latossolo Vermelho sob preparo reduzido, degradado pelo cultivo anterior durante 23 anos sob preparo convencional, concluíram que: o cultivo do solo sob sistema convencional, durante 23 anos, resultou numa diminuição em aproximadamente 50% no estoque original de matéria orgânica do solo; com a inclusão de coberturas vegetais, nos sistemas de cultura, houve uma recuperação parcial dos estoques de carbono orgânico e nitrogênio total no solo sob preparo reduzido, destacando-se a mucuna cinza e o feijão de porco; a recuperação dos estoques de matéria orgânica do solo refletiu positivamente na capacidade de troca de cátions do solo.

A utilização de plantas de cobertura com hábito perene, capazes de suportar o estresse hídrico e altas temperaturas, como as braquiárias, pode proporcionar significativo acúmulo de fitomassa em relação a outras plantas (PACHECO et al., 2008), e o uso de leguminosas constitui importante fonte de nutrientes, principalmente N ao solo, pelo processo de fixação biológica (AITA; GIACOMINI, 2006).

De acordo com Wutke et al. (2014) a *Uroclhoa ruzizensis* pode produzir até 14 toneladas de biomassa seca por hectare por ano; além da elevada capacidade fotossintética as tornando adequadas para o sequestro de gás carbônico da atmosfera (WUTKE et al., 2009). Considerando uma relação carbono/nitrogênio mais ampla, a sua taxa de decomposição é mais lenta o que permite uma manutenção de palha na superfície do solo por um maior espaço de tempo (RODRIGUES et al., 2008), além de não sofrerem com o estresse hídrico, principalmente no outono/inverno, quando há a redução da sua atividade fotossintética (WUTKE et al., 2014).

Se implantadas de forma adequada ao sistema de rotação de culturas, as plantas de cobertura, em especial as gramíneas, podem produzir elevada biomassa com relação carbono/ nitrogênio alta, o que garantirá a cobertura do solo por um período longo (BORGHI et al., 2008).

De acordo com a Plataforma Plantio Direto (2006) citado por Voltam (2008), a consequência do uso do plantio direto será a busca por coberturas vegetais. Portanto para

que haja o alcance de altos níveis na produtividade, a escolha das espécies a serem usadas como cobertura vegetal que melhores respostas derem à determinada cultura é imprescindível; e para que a aplicação dessa técnica não onere a produção da cultura é interessante que tenham algumas características como: rápido crescimento; relação C/N compatível com a região (FRAGA JÚNIOR et al., 2008); grande produção de massa; disponibilidade de sementes no mercado; ciclo curto; não ser hospedeiras de nematoides; não possuir dormência; sendo que o maior desafio é a manutenção da palhada até o final do ciclo da principal cultura (FRAGA JÚNIOR et al., 2008).

De acordo com Teixeira et al. (2005), na Região Sul, o inverno chuvoso permite a implantação de cultivos de inverno para a produção exclusiva de palha ou a produção de grãos, com alta quantidade de restos culturais como o trigo, centeio, cevada e aveia; já nos cerrados, a produção e manutenção de altas quantidades de palha sobre a superfície tornam-se um pouco mais difíceis, devido ao fato dessas regiões possuírem duas estações bem definidas, com seis meses de chuva e muito calor na primavera/verão e seis meses de estiagem no outono/inverno. Andrioli et al. (2008) completam dizendo que independentemente da localização geográfica, algumas condições como a rotação de culturas, produção de fitomassa e cobertura do solo são fundamentais para a implantação, manutenção e viabilização do sistema plantio direto.

As principais espécies vegetais utilizadas para cobertura são gramíneas e leguminosas, cada qual com suas características peculiares. Ambas são importantes, desde que sejam bem utilizadas. Na escolha destas plantas, é fator decisivo conhecer a sua adaptação à região e sua habilidade em crescer num ambiente menos favorável (HECKLER; SALTON, 2002).

Assim, o efeito de plantas de cobertura e de sistemas de preparo no acúmulo de matéria orgânica no solo e na melhoria de seus atributos biológicos deve ser quantificado regionalmente e para cada sistema produtivo, uma vez que depende da textura e mineralogia do solo, do relevo e das condições de temperatura e umidade (CUNHA et al., 2011). Deste modo, estudos que recomendem coberturas vegetais que tragam resultados satisfatórios tanto para a produtividade como para a estrutura e fertilidade do solo, são de extrema relevância, para a melhoria dos sistemas de produção.

2.4 AZOSPIRILLUM BRASILENSE

Nos últimos anos a cultura do milho tem tido uma evolução crescente principalmente

em termos de produtividade.

Um dos principais fatores limitantes para a produtividade dessa cultura é o suprimento inadequado de nitrogênio, sendo esse o nutriente de maior importância e o que mais limita a produção, como também o que mais onera o custo de produção (SILVA et al., 2001), segundo dados da CONAB 2015 o fertilizante nitrogenado é responsável por cerca de 30% dos custos de produção da cultura.

De acordo com Ferreira et al (2013), uma das possibilidades para o produtor optar pelo uso de fontes alternativas de N é a redução nos custos de produção; além da preocupação cada vez maior com possíveis efeitos negativos do excesso de nitrato nos mananciais são fatores que devem ser levados em consideração para o incentivo ao estudo do processo natural de fixação biológica do N (CANTARELA; DUARTE, 2004).

O uso de inoculantes contendo bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) pode ser uma das alternativas existentes para aumentar a eficiência do uso de fertilizantes químicos, podendo levar à diminuição da quantidade aplicada em ambientes de produção agrícola (SPOLAOR et al., 2016).

Para Figueiredo et al. (2010) a utilização de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), para o aumento da produção agrícola, será provavelmente uma das táticas mais importantes para a atualidade no mundo. Pois a demanda para a diminuição da dependência de fertilizantes químicos e a necessidade de desenvolvimento da agricultura sustentável é requerida por pesquisadores e produtores (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Vários benefícios foram observados através da utilização de *Azospirillum brasilense*, seja pela indução de resistência às doenças, pela produção de fitormônios, solubilização de fosfato inorgânico e fixação biológica de nitrogênio (FBN).

A FBN é um processo de transformação do N_2 realizado por microrganismos conhecidos por fixadores de N_2 ou diazotróficos na forma inorgânica combinada NH_3 , (NOVAKOWISKI et al., 2011). Dentre os diazotróficos, bactérias do gênero *Azospirillum* associam-se à rizosfera do milho e podem contribuir com a nutrição nitrogenada da cultura (ARAÚJO et al., 2014; FIGUEIREDO et al., 2009).

Na literatura existem vários trabalhos confirmando que o *Azospirillum* produz fitohormônios que estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas (BURDMAN et al., 1996; HUNGRIA, 2011), e ainda pode fixar N e disponibilizá-lo à planta.

Segundo Hungria (2011) o maior desenvolvimento das raízes pela inoculação com *Azospirillum* pode implicar em vários outros efeitos. Já foram relatados incrementos na

absorção da água e minerais, maior tolerância a estresses como salinidade e seca, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (HUNGRIA, 2011).

De acordo com Steffens (2010), experimentos de inoculação a campo revelaram ganhos em rendimento e no aumento da superfície da absorção das raízes da planta, isso ocorre porque a inoculação modifica a morfologia do sistema radicular, alterando o número de radículas e o diâmetro médio das raízes laterais.

Nos últimos anos, tem sido observado o efeito das bactérias *Azospirillum* spp. no desenvolvimento do milho e em outras gramíneas, não somente quanto ao rendimento das culturas, mas também, com relação às causas fisiológicas que aumentam esse rendimento (CAVALLET et al., 2000).

De acordo com Araujo et al. (2014) os estudos evidenciam que a contribuição dessa bactéria para a produção de milho tem mostrado resultados contrastantes (HUNGRIA et al., 2010; BARTCHECHEN et al., 2010; GODOY et al., 2011). Godoy et al. (2011) utilizaram inoculante com *Azospirillum brasilense* e não encontraram respostas positivas da inoculação sobre a produtividade do milho. Por outro lado, Hungria et al. (2010) avaliaram o uso de *A. brasilense* sobre o milho e encontraram um aumento em 30% na produtividade em relação ao controle sem inoculação (ARAUJO et al., 2014).

Segundo Kappes et al (2013b), vários autores têm demonstrado a interação positiva entre bactérias diazotróficas e a cultura do milho; embora o maior obstáculo para a utilização desta tecnologia é a inconsistência de resultados em condições de campo, ligada a fatores como condições edafoclimáticas e interações com a biota do solo (REIS, 2007). De acordo com Kappes et al. (2013a) diversas pesquisas realizadas no Brasil demonstram incrementos de produtividade de milho através da inoculação com *Azospirillum* (HUNGRIA et al., 2010; PORTUGAL et al., 2012; KAPPES et al., 2013).

Apesar de muitos anos de pesquisa, ainda se observam respostas muito variáveis, o que mostra a importância e justifica a realização de experimentos de campo (KAPPES et al., 2013b), e indicações concisas dessa tecnologia.

Com o exposto, pesquisas que norteiem a decisões e tecnologias a serem utilizadas, principalmente no que se refere as plantas de cobertura e inoculação com *A. brasilense* em diferentes preparos do solo, são de inquestionável acuidade para o fortalecimento da segunda safra de cultivo da cultura do milho.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÁREA EXPERIMENTAL

A área experimental teve os sistemas de manejo do solo instalados no ano agrícola 1997/98. No período de verão de 2008/09, 2009/10 e 2010/11 a área foi cultivada com milho em 2011/12 e 2012/13 a área foi cultivada com arroz. No inverno de 2008/09, 2009/10 e 2010/11 a área ficou em pousio e nos anos agrícolas de 2011/12 e 2012/13 foi cultivado o feijão. Já na primavera dos anos de 2009/10, 2010/11 e 2011/12 a área foi semeada com milheto, crotalária e o consórcio milheto + crotalaria mantendo cada cobertura vegetal durante os três últimos anos agrícolas nos mesmos locais de cultivo. Como cultura anterior as coberturas vegetais para o milho, no verão (2013/14 e 2014/15) foi cultivada a soja, semeada em outubro de 2013 e colhida em janeiro de 2014 na safra 2013/14 e semeada em outubro de 2014 e colhida em janeiro de 2015 na safra 2014/15 (Figura 1), situação que ocorre em muitas áreas produtoras, principalmente no cerrado brasileiro. O esquema com o histórico da área experimental descritos acima estão presentes na Tabela 1.

Figura 1 - Aspecto geral da cultura da soja. Selvíria – MS, Brasil (2015).



Fonte: da própria autora.

Tabela 1- Histórico da área experimental durante os anos agrícolas 2008/09, 2009/10, 2010/11, 2011/12, 2012/13. Selvíria - MS, Brasil, 2014.

Ano Agrícola	Estação		
	Primavera	Verão	Inverno
2008/09	Pousio	Milho	Pousio
2009/10	Coberturas vegetais	Milho	Pousio
2010/11	Coberturas vegetais	Milho	Pousio
2011/12	Coberturas vegetais	Milho	Feijão
2011/12	Coberturas vegetais	Arroz	Feijão
2012/13	Coberturas vegetais	Arroz	Feijão
2013/14(Projeto)	Soja	Coberturas vegetais	Milho (segunda safra)
2014/15(Projeto)	Soja	Coberturas vegetais	Milho (segunda safra)

Fonte: da própria autora

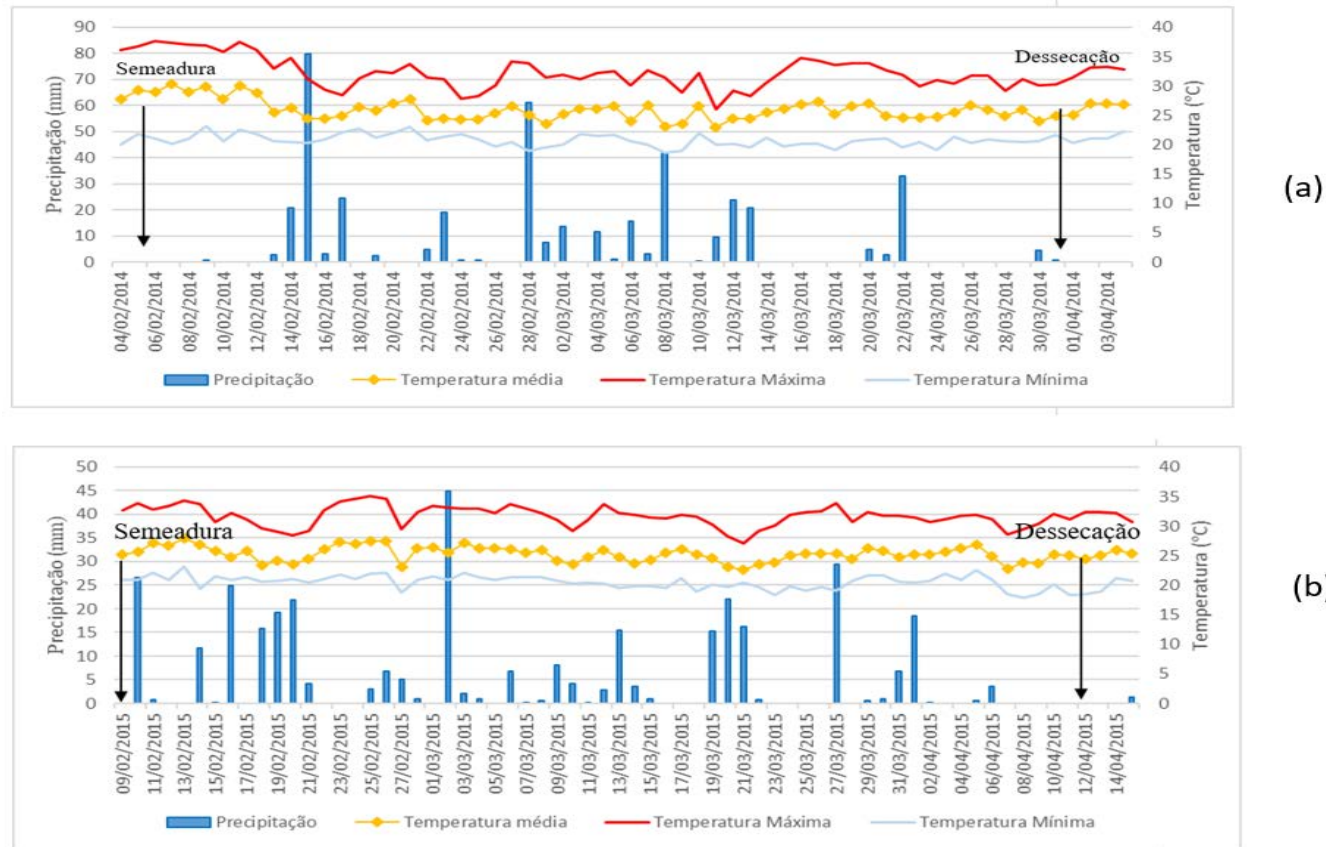
3.2 CARACTERIZAÇÃO DO CLIMA E DO SOLO

O experimento foi desenvolvido nos anos agrícolas de 2013/14 e 2014/15 em área experimental da Fazenda de Ensino e Pesquisa pertencente à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, localizada no município de Selvíria – MS. O solo do local é do tipo LATOSSOLO VERMELHO-ESCURO Epi-eutrófico álico, textura argilosa (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA, 2006), originalmente sob vegetação de cerrado e vem sendo explorado por culturas anuais há mais de 28 anos.

A precipitação pluvial média anual da região é de 1.313 mm, com temperatura máxima anual de 31 °C, mínima anual de 19 °C e média anual de 25 °C (Portugal, Peres e Rodrigues, 2015), com tipo climático Aw, segundo a classificação de Köppen.

Os dados climáticos durante o período experimental foram coletados em Estação Meteorológica da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira localizada no município de Selvíria - MS. Estão disponíveis na Figura 2 (a) para o ano de 2014 e Figura 2 (b) para o ano de 2015, com satisfatório regime pluviométrico para o desenvolvimento das plantas.

Figura 2 – Precipitação pluvial (mm), temperatura máxima, temperatura média e temperatura mínima (°C), ocorridos durante a permanência das coberturas vegetais em 2014 e 2015. Selvíria - MS, 2017.



Fonte: da própria autora. (Adaptado de dados obtidos da Estação Meteorológica da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira localizada no município de Selvíria – MS).

3.3 INSTALAÇÃO DAS COBERTURAS VEGETAIS

Nas safras de 2014 e 2015 as coberturas vegetais foram semeadas em fevereiro, nos dias 6 e 12, respectivamente, com semeadora específica para o sistema plantio direto e mecanismo de distribuição de sementes com fluxo contínuo. Nos dois anos de cultivo a *Crotalaria spectabilis* (Figura 3) e a *Urochloa ruziziensis* (Figura 4), no cultivo solteiro, foram semeados em linhas espaçadas de 0,17 m entre si, com densidades de 40 kg ha⁻¹, para ambas espécies. No cultivo consorciado (Figura 5) (*Urochloa ruziziensis* + *Crotalaria spectabilis*), a densidade de semeadura foi a metade da utilizada no cultivo solteiro para ambas as espécies vegetais. A *Urochloa ruziziensis* foi semeada em linhas intercalares com as de *Crotalaria spectabilis*, portanto, espaçadas de 0,17 m (Figura 7). Os dados climáticos durante o desenvolvimento das diferentes coberturas vegetais estão disponíveis na Figura 2 (a) para o ano de 2014 e Figura 2 (b) para o ano de 2015, com satisfatório regime pluviométrico para o desenvolvimento das plantas.

Figura 3 - *Crotalaria spectabilis*. Selvíria - MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 4 - *Urochloa ruziziensis*. Selvíria - MS, Brasil, 2015



Fonte: própria autora.

Figura 5 - Consórcio entre *Urochloa ruziziensis* e *Crotalária spectabilis*. Selvíria - MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 6 - Vista geral das plantas de cobertura. Selvíria - MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Não foram realizados quaisquer tipos de adubação mineral e tratamentos fitossanitários das coberturas vegetais, haja vista o seu bom desenvolvimento, exceto para a *C. spectabilis* que apresentou em ensaios anteriores vulnerabilidade a doenças comuns na região e foram tratadas com piraclostrobina, tiofanato metílico e fipronil (100 g i.a. 100 kg de semente⁻¹). As coberturas vegetais foram dessecadas com herbicidas específicos no dia 1 de abril de 2014 (54 DAS) e 6 de abril de 2015 (53 DAS) (Figuras 7, 8 e 9) e manejadas com rolo faca, objetivando distribuir de forma uniforme os resíduos das culturas na área de cultivo e facilitar a semeadura do milho (Figura 10).

O fornecimento de água, quando necessário, foi realizado com sistema de irrigação por aspersão. Para tanto, levou-se em consideração os dados de precipitação registrados na Estação Meteorológica da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (UNESP).

Figura 7- *Urochloa ruziziensis* aos 53 DAS. Selvíria - MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 8 - *Crotalaria spectabilis* aos 53 DAS. Selvíria - MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 9 - Consórcio entre *Urochloa ruziziensis* e *Crotalaria spectabilis* aos 53 DAS. Selvíria - MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 10 - Manejo das coberturas vegetais com triton. Selvíria - MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

3.4 MANEJO DO SOLO

O preparo do solo foi realizado após as coberturas vegetais serem manejadas mecanicamente. O manejo no sistema plantio direto ficou restrito somente a desintegração mecânica das coberturas vegetais. O cultivo mínimo foi realizado com escarificador de sete hastes à profundidade de trabalho de 33 cm e com grade niveladora (32 x 20) à profundidade aproximada de 10 cm, respectivamente (Figura 12). O preparo convencional do solo foi realizado com grade pesada (14 x 32) a profundidade de 20 cm e com grade niveladora (32 x 20) a profundidade de 10 cm, respectivamente (Figura 11).

Figura 11 - Preparo do solo com grade pesada em Sistema convencional. Selvíria - MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 12 - Preparo do solo com escarificador em Sistema de Cultivo Mínimo. Selvíria - MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

3.5 SUBPROJETOS

As avaliações do efeito das diferentes coberturas vegetais e modos de inoculação de *A. brasilense* foram realizadas em três diferentes sistemas de preparo de solo. A divisão foi realizada em três subprojetos, onde as fontes de variação coberturas vegetais, modos de inoculação foram mantidas, e mudando o sistema de preparo de solo em cada subprojeto. Assim, os subprojetos foram definidos como: a) coberturas vegetais e modos de inoculação em sistema plantio direto; b) coberturas vegetais e modos de inoculação em sistema cultivo mínimo e; c) coberturas vegetais e modos de inoculação em sistema preparo convencional.

3.5.1 Tratamentos e delineamento experimental

Nos dois anos de condução do experimento, os três subprojetos (a, b e c) apresentaram doze tratamentos cada, os quais resultaram da combinação dos fatores coberturas vegetais, com e sem inoculação de *A. brasilense* sobre os diferentes manejos com sistema plantio direto (subprojeto a) cultivo mínimo (subprojeto b), preparo convencional (subprojeto c). As coberturas vegetais utilizadas foram as culturas: C.

spectabilis uso solteira, *U. ruziziensis* uso solteira, e o consórcio entre a *C. spectabilis* e a *U. ruziziensis*. Em relação à inoculação com *A. brasilense*, os tratamentos foram constituídos em: testemunha (sem inoculação de *A. brasilense*), inoculação de *A. brasilense* nas sementes do milho, inoculação de *A. brasilense* na semente do milho e via foliar (estádio V₄) e inoculação de *A. brasilense* via foliar (estádio V₄). Os sistemas de manejo do solo consistiram em: sistema plantio direto, cultivo mínimo com preparo com escarificador + grade niveladora e; preparo convencional com grade pesada + grade niveladora.

Os delineamentos experimentais foram de blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas em cada tipo de preparo do solo (subprojetos), sendo constituídos por três coberturas vegetais e quatro modos de inoculação com quatro repetições. Cada bloco foi composto por três parcelas com as coberturas vegetais que receberam a semeadura de 14 linhas de milho com espaçamento entre linhas de 0,45 m e comprimento 12,5 m (12m de área útil e 0,5m de carreador para divisão das subparcelas).

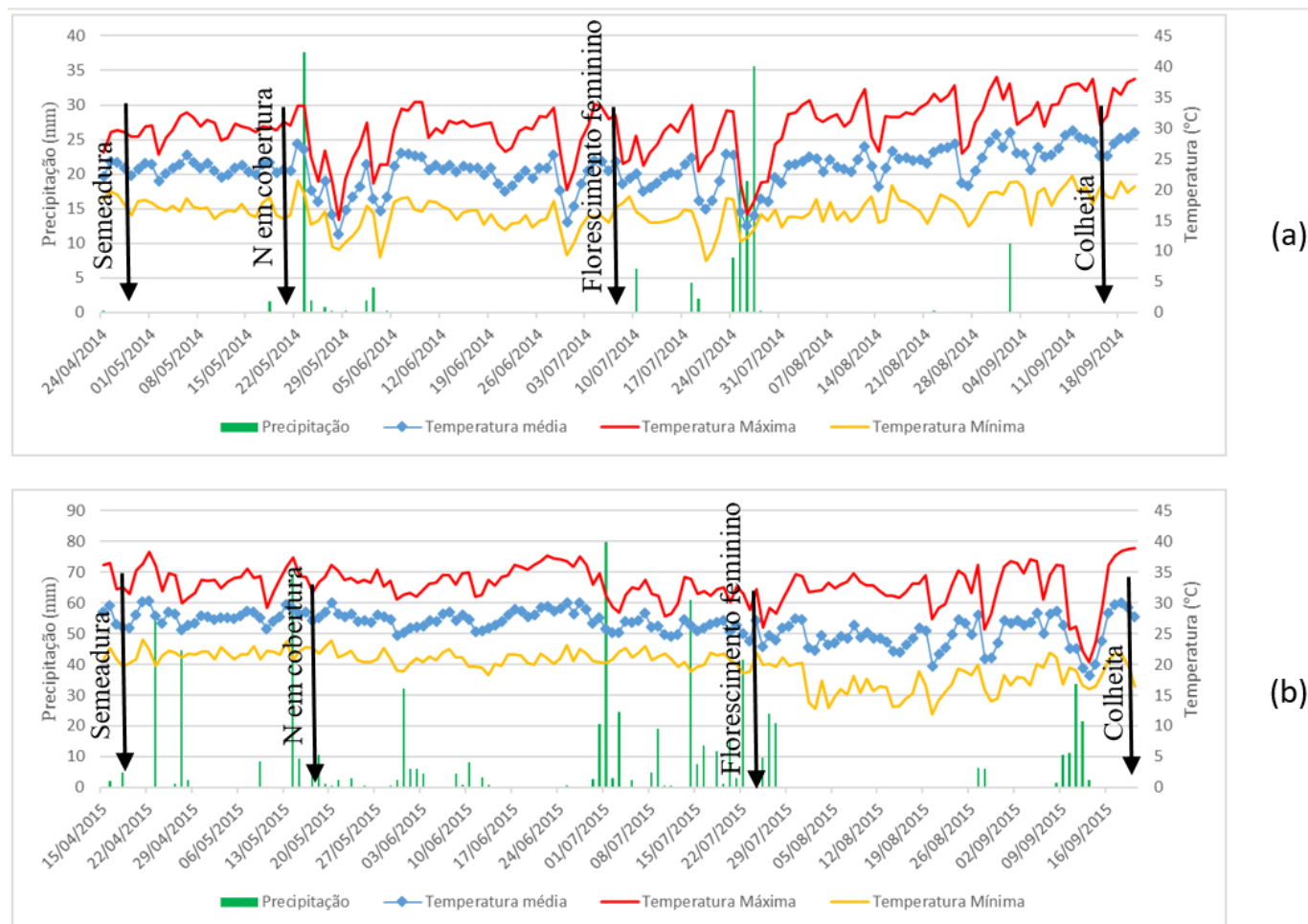
Cada parcela foi composta por quatro subparcelas, as subparcelas receberam os modos de inoculação de *Azospirillum brasilense*, sendo cada subparcela de 7 linhas com 6 m de comprimento. A área útil foi constituída por quatro linhas centrais de cada subsubparcela, considerando as linhas laterais como bordaduras.

Os dados climáticos durante o desenvolvimento da cultura do milho segunda safra estão disponíveis na Figura 13 (a) para o cultivo em 2014 e Figura 13 (b) para o cultivo em 2015.

Em 2014 o híbrido utilizado foi DKB 390 PRO 2D, as sementes de milho já estavam tratadas com 0,2 ml de deltametrina, 0,8 ml de pirimifós-metílico, 3,75 ml de fludioxonil, 1,5 ml de metalaxil-M, 0,14 de polioxietileno aquil fenol éter para cada 100 kg de semente, a semeadura do milho foi realizada dia 25 de abril de 2014, com regulagem para 3,4 sementes por metro (90.000 sementes por hectare). Em 2015 o híbrido utilizado foi o Dow 2B 810, as sementes de milho já estavam tratadas com 0,0375g de fludioxonil, 0,0150g de metalaxil-M, 0,0080g pirimifós-metílico e 0,0020g de deltametrina para cada 100 kg de semente, a semeadura do milho foi realizada dia 17 de abril de 2015 (Figura 14), com regulagem para 3,4 sementes por metro (90.000 sementes por hectare) e espaçamento entrelinhas de 0,45m. Em ambos os anos de cultivo, foi realizada a inoculação com *Azospirillum brasilense* em parte das sementes, estirpe AbV5 e AbV6 (tratamentos com inoculação), com quantidade de 100 ml de inoculante comercial

contendo *Azospirillum brasilense* para cada 10 kg de sementes e logo após se realizou a semeadura em solo com boa umidade. As adubações de semeadura foram realizadas com 250 kg ha⁻¹ da fórmula 08-28-16, calculada de acordo com as características químicas do solo, levando em consideração as recomendações de Cantarella e Duarte (2004).

Figura 13 - Dados climáticos durante o desenvolvimento da cultura do milho segunda safra nos anos de 2014 e 2015. Selvíria – MS, 2017.



Fonte: da própria autora. Adaptado de dados obtidos da Estação Meteorológica da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira localizada no município de Selvíria - MS.

Figura 14 - Semeadura da cultura do milho. Selvíria – MS, Brasil (2015).



Fonte: da própria autora.

As emergências das plântulas ocorreram em 30 de abril de 2014 e 22 de abril de 2015, aos 5 dias após a sementeira (DAS) em ambos os anos. O manejo fitossanitário e o controle de plantas daninhas foram realizados com produtos específicos para cada caso.

As aplicações de *Azospirillum brasilense* via foliar foram realizadas nos dias 17 de maio de 2014 e 12 de maio de 2015, aos 17 e 20 dias após emergência, respectivamente (DAE) (Figura 15) quando o milho encontrava-se na fase V₄, com a aplicação de 200 ml ha⁻¹ do inoculante comercial no fim do dia (por volta das 18hs).

As adubações de cobertura foram realizadas nos dias 20 de maio de 2014 (20 DAE) e 18 de maio de 2015 (26 DAE) (Figura 16), com aplicação de 50 kg de N ha⁻¹, utilizando o fertilizante sulfato de amônio como fonte de nitrogênio.

Os florescimentos femininos foram observados nos dias 7 de julho de 2014, aos 68 DAE e 23 de junho de 2015, aos 61 DAE. Durante o desenvolvimento das espigas, houveram riscos de ataque por pássaros, sendo necessário cobrir com sacos de papel impermeável aos 93 DAE e 82 DAE, em 2014 e 2015, respectivamente. (Figura 17 e 18).

Figura 15 - A aplicação de *Azospirillum brasilense* via foliar. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 16 - Adubação de cobertura em V₄₋₅. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 17 - Milho aos 82 DAE. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 18 - Espiga protegida com saco com cola especial para evitar ataque de pássaros. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 19 - Milho no momento da colheita (140 DAE). Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 20 - Milho no momento da colheita (140 DAE). Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Em 2014 a colheita ocorreu no dia 16 de setembro (139 DAE) e em 2015 no dia 18 de setembro (140 DAE) (Figura 19 e 20), ambas realizadas manualmente.

3.6 AVALIAÇÕES

3.6.1 Coberturas vegetais

Foram realizadas as seguintes avaliações nas coberturas vegetais:

Massa de matéria seca da parte aérea das coberturas vegetais (MSPA): imediatamente após a passagem do desintegrador mecânico foram realizadas as avaliações da produção de massa seca da cobertura vegetal (Figura 21 e 22), por meio de amostragens em uma área de 0,25m². As coletas do material vegetal foram feitas de maneira aleatória em quatro pontos de cada parcela. Após a secagem, em estufa de circulação forçada de ar a temperatura de 65°C, foram realizadas as pesagens e os dados foram transformados em kg ha⁻¹.

Figura 21 - Coleta de amostra de plantas de cobertura. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 22 - Coleta de amostra de plantas de cobertura. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Teor de N da parte aérea das plantas: Após secagem em estufa com circulação forçada de ar 60-70°C, por 72 horas, as amostras da matéria seca da parte aérea das coberturas vegetais foram moídas em moinho tipo Wiley e em seguida submetidas à digestão sulfúrica, conforme metodologia proposta por Malavolta et al. (1997).

Nitrogênio acumulado: obtido através do produto do teor de N da parte aérea das plantas com a massa da matéria seca da parte aérea.

Em 2014 e 2015, foram realizadas as seguintes avaliações nas plantas de milho:

Altura de plantas: medida em metros, do nível do solo até a inserção do limbo da folha bandeira, utilizando-se cinco plantas da área útil da parcela (Figura 23).

Altura de inserção de espigas: medida em metros, do nível do solo até a inserção da espiga superior, utilizando-se cinco plantas da área útil da parcela (Figura 24).

Figura 23 - Altura de plantas de milho. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 24 - Altura de inserção de espigas de milho. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Diâmetro do colmo: medida em milímetros com paquímetro a 20 cm do solo, utilizando-se cinco plantas da área útil da parcela (Figura 25 e 26).

Massa seca das plantas: por ocasião do florescimento pleno das plantas, foram coletadas 5 plantas em local pré-determinado na área útil de cada parcela, em seguida foram levadas ao laboratório moídas e acondicionadas em sacos de papel devidamente identificados e colocados em estufa de ventilação forçada à temperatura média de 60 a 70°C, até atingir massa constante.

Teor de N nas folhas: Após secagem em estufa com circulação forçada de ar 60-70°C, por 72 horas, as amostras da massa seca da parte aérea das plantas de milho, foram moídas em moinho tipo Wiley e em seguida submetidas à digestão sulfúrica, conforme metodologia proposta por Malavolta et al. (1997).

Quantificação de bactérias endofíticas diazotróficas (Número mais provável de bactérias endofíticas diazotróficas) - *Azospirillum* sp.: as coletas dos solos para as análises foram realizadas nos florescimentos femininos pleno e armazenados em câmara fria (10 °C) e seca até o momento das análises. A estimativa do número de bactérias do gênero *Azospirillum* spp. em associação com o solo da rizosfera de plantas de milho foram determinadas pelo método descrito por Döbereiner et al. (1995) na fase de desenvolvimento R₁ (pendoamento). Foi utilizado o meio de cultura NFb, que é semi- seletivo para o isolamento de *Azospirillum* sp. Amostras de solo foram diluídas em solução salina 0,85%, agitadas em agitador horizontal e diluídas serialmente, de 10^{-2} até 10^{-7} . Retiradas alíquotas diluídas e inoculadas nos frascos com meio de cultura. Os frascos foram incubados a 30 °C e após 5 dias o crescimento bacteriano foram avaliados verificando-se o aparecimento de coloração azul e de película característica, que evidenciam a presença do *Azospirillum*. Os números populacionais foram obtidos com o uso da tabela de Mc Crady, tomando-se por base o número de frascos positivos.

Figura 25 - Diâmetro do colmo de milho. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 26 - Diâmetro do colmo de milho. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Figura 27 - Espigas de milho na ocasião da colheita. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Número de fileiras por espiga: na ocasião da colheita foram retiradas 10 espigas por parcela em local pré-estabelecido para a determinação (Figura 27).

Número de grãos por fileira: na ocasião da colheita foram retiradas 10 espigas por parcela em local pré-estabelecido para a determinação (Figura 28).

Número de grãos por espiga: após a obtenção do número de fileiras por espiga e número de grãos por fileira, os valores foram multiplicados e obteve-se o número de grãos por espiga.

Massa de espiga: pesada 5 espigas e realizado o peso médio.

Massa de cem grãos (g): na ocasião da colheita após a trilha das parcelas colhidas foram quantificadas a valor da massa de cem grãos com umidade corrigida para 13% de base úmida.

Figura 28 - Espigas de milho para análise de contagem de número de fileiras e grãos por fileira. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

População final de plantas: foram contadas as plantas de três linhas centrais de 5 metros por ocasião da colheita.

Produtividade: As espigas foram retiradas das plantas da área útil de cada parcela e secaram à pleno sol. Após a secagem, as mesmas foram submetidas à trilha mecânica, foi determinada a massa dos grãos e os dados foram transformados em kg ha^{-1} (umidade de 13% base úmida) (Figura 29).

Figura 29 - Umidade de grãos de milho. Selvíria – MS, Brasil, 2015.



Fonte: da própria autora.

Análise estatística: Os resultados foram submetidos ao teste F da análise de variância. Constatado resultado significativo pelo teste F ($p < 0,01$ e $p < 0,05$), foi realizada a comparação de médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para as coberturas vegetais e modos de inoculação com *A. brasilense*. Os dados de número mais provável de bactérias endofíticas diazotróficas – *Azospirillum* sp. Foram transformados visando atender aos pressupostos da análise de variância. O programa estatístico Sisvar foi utilizado nas análises estatísticas (FERREIRA, 2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 COBERTURAS VEGETAIS E MODOS DE INOCULAÇÃO COM *A. BRASILENSE* EM MILHO SEGUNDA SAFRA CULTIVADO EM SISTEMA PLANTIO DIRETO

Os valores médios de massa seca de plantas (MSP), nitrogênio de parte aérea de plantas (NP) e nitrogênio acumulado (NA) em coberturas vegetais cultivadas em sistema Plantio Direto nos anos de 2014 e 2015 estão descritos na Tabela 2, onde para MSP em 2014, a *U. ruziziensis* teve o maior valor médio (6.112 kg ha^{-1}) quando comparado a *C. spectabilis* (4.516 kg ha^{-1}) e consórcio *C. spectabilis* + *U. ruziziensis* (4.948 kg ha^{-1}).

No ano de 2015, observa-se que não houve diferença para a MSP entre a *U. ruziziensis* ($10.000 \text{ kg ha}^{-1}$), a *C. spectabilis* ($10.275 \text{ kg ha}^{-1}$) e consórcio *C. spectabilis* + *U. ruziziensis* ($10.550 \text{ kg ha}^{-1}$), verificando médias de MSP superior à 10 t ha^{-1} . Sabundjian et al. (2013) avaliando a influência do milho e/ou *U. ruziziensis* antecedendo ao feijão, associada à adubação nitrogenada em cobertura, sobre os componentes de produção e produtividade de grãos do feijoeiro, em cultivo de inverno (irrigado), sob sistema plantio direto, observaram para massa de matéria seca de *U. ruziziensis* uma produção de mais de 10 toneladas por hectare quando as plantas permaneceram cerca de 170 dias na área

As plantas de cobertura foram mantidas na área em semelhante quantidade de dias (54 dias em 2014 e 53 dias em 2015), porém a massa produzida pelas coberturas vegetais em 2015 foi quase 50% superior à produzida em 2014, isso pode ser explicado pelo regime de precipitação (Figura 2), que foi mais adequado ao desenvolvimento das culturas em 2015, favorecendo seu desenvolvimento e aporte de massa.

Nos dois anos experimentais a *C. spectabilis* obteve os maiores teores de nitrogênio nas plantas ($23,17 \text{ g kg}^{-1}$ em 2014 e $24,73 \text{ g kg}^{-1}$ em 2015), cerca de 29% superior as demais coberturas vegetais (Tabela 2). O que era esperado visto que se trata de uma espécie leguminosa, que tem a capacidade de adquirir N da fixação biológica de nitrogênio através da associação com bactérias diazotróficas, como o rizóbio por exemplo.

Na Tabela 2, consta também o N acumulado em cada cobertura vegetal e em cada ano de implantação, em 2014 com $105,02 \text{ kg de N ha}^{-1}$ a *C. spectabilis* apresentou maiores médias quando comparada à *U. ruziziensis* ($108,21 \text{ kg de N ha}^{-1}$) e consórcio de *C. spectabilis* + *U. ruziziensis* ($82,65 \text{ kg de N ha}^{-1}$). Segundo Chrisóstomo et al. (2006) o aporte contínuo de resíduos vegetais na superfície do solo e, por consequência, de carbono e de nitrogênio, contribuem significativamente para a melhoria da qualidade do solo.

Tabela 2 - Massa seca de plantas (MSP), nitrogênio de plantas (NP) e nitrogênio acumulado em coberturas vegetais cultivadas em Sistema Plantio Direto. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Coberturas Vegetais	MSP (kg ha ⁻¹)		NP (g kg ⁻¹)		NA (kg ha ⁻¹)	
	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	4.515 b	10.000	23,17 a	24,73 a	105,02 ab	242,85
<i>Urochloa</i>	6.112 a	10.275	17,75 b	16,94 b	108,21 a	173,33
<i>Crot + Uroc</i>	4.948 b	10.550	16,68 b	14,70 b	82,65 b	167,12
DMS	1.159	-	2,85	3,41	23,16	-
Teste de F ⁽¹⁾	6,44*	0,03 ^{ns}	18,85***	44,83***	4,72**	2,32 ^{ns}
CV (%)	17,72	29,29	11,81	8,37	18,89	28,41
Média geral	5.191	10.275	19,20	18,79	98,62	194,43

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*)⁽¹⁾Teste F: *, ** e *** – significativo a 1%, 2% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

Já para a cultura do milho segunda safra, os valores médios de altura de plantas de milho, altura de inserção da primeira espiga e diâmetro do colmo de plantas de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *A. brasilense* cultivado em Sistema Plantio Direto em 2014 e 2015 estão descritos na Tabela 3. A altura de plantas e diâmetro do colmo de milho não foram influenciados por nenhum tratamento empregado, tendo como médias gerais para altura de plantas 1,91m em 2014 e 2,18m em 2015, para diâmetro de colmo de plantas com 20,96mm em 2014 e 21,26mm em 2015.

Para altura de inserção de espigas em 2015, as plantas de milho que sucederam à *C.spectabilis*, apresentaram maiores médias (1,16 m) quando comparado ao consórcio de *C. spectabilis* + *U. ruziziensis* (1,10m). O que pode ser explicado porque, o cultivo de milho em sucessão a leguminosas proporciona maior quantidade de N à cultura, além de melhor aproveitamento do N proveniente do fertilizante nitrogenado pela planta e maior produtividade de grãos (Carvalho et al., 2015), seja por meio da fixação biológica ou pela ciclagem do N absorvido das camadas subsuperficiais com a incorporação de biomassa, o que resulta em economia de fertilizantes nitrogenados (COLLIER et al., 2006; SILVA et al., 2006; ALBUQUERQUE et al., 2013).

Tabela 3 - Valores médios de altura de plantas de milho (AP), altura de inserção da primeira espiga (AE) e diâmetro do colmo (DC) de plantas de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Plantio Direto. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	AP (m)		AE (m)		DC (mm)	
Coberturas vegetais (C)	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	1,93	2,19	1,06	1,16 a	21,15	20,95
<i>Urochloa</i>	1,89	2,18	1,03	1,12 ab	21,24	21,00
<i>Crot</i> + <i>Uroc</i>	1,90	2,18	1,02	1,10 b	20,49	21,34
DMS	-	-	-	0,04	-	-
Inoculação (I)						
T	1,93	2,20	1,05	1,11	20,82	21,15
AF	1,94	2,15	1,08	1,13	20,71	21,19
AS	1,88	2,18	1,02	1,15	20,95	20,83
AS + AF	1,87	2,19	1,01	1,13	21,35	21,26
DMS	-	-	-	-	-	-
Teste F ⁽¹⁾						
C	1,40 ^{ns}	0,06 ^{ns}	1,86 ^{ns}	4,83*	0,58 ^{ns}	0,92 ^{ns}
I	2,29 ^{ns}	0,68 ^{ns}	2,69 ^{ns}	0,92 ^{ns}	1,64 ^{ns}	0,63 ^{ns}
C*I	0,45 ^{ns}	1,37 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,41 ^{ns}	1,03 ^{ns}	0,80 ^{ns}
CV (%)	4,44	4,08	6,12	4,67	6,07	4,17
Média geral	1,91	2,18	1,04	1,13	20,96	21,10

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot* + *Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

Na Tabela 4 estão descritos os valores médios de massa de plantas de milho (MPM), número de fileiras de grãos em espiga de milho (NFG) e número de grãos por fileiras em espiga de milho (NGF) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *A. brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Plantio Direto. Em todas as características avaliadas, os tratamentos com as coberturas vegetais antecedendo ao cultivo do milho e os modos de inoculação com *A. brasilense* em milho, não promoveram à cultura diferenças entre as médias.

Tabela 4 - Valores médios de massa de plantas de milho (MPM), número de fileiras de grãos em espiga de milho (NFG) e número de grãos por fileiras em espiga de milho (NGF) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Plantio Direto. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	MPM (g planta ⁻¹)		NFG		NGF	
Coberturas vegetais (C)	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	96,14	79,35	17	18	29	32
<i>Urochloa</i>	96,62	79,61	17	18	28	32
<i>Crot + Uroc</i>	89,66	83,92	17	18	27	32
DMS	-	-	-	-	-	-
Inoculação (I)						
T	91,09	76,01	18	18	27	32
AF	88,96	86,13	17	18	28	32
AS	96,43	79,65	17	18	29	33
AS + AF	93,41	82,05	17	18	28	32
DMS	-	-	-	-	-	-
Teste F ⁽¹⁾						
C	0,80 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,02 ^{ns}	1,30 ^{ns}	0,63 ^{ns}
I	0,56 ^{ns}	0,59 ^{ns}	2,70 ^{ns}	1,11 ^{ns}	0,90 ^{ns}	0,12 ^{ns}
C*I	2,16 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,65 ^{ns}	1,17 ^{ns}	0,70 ^{ns}	0,89 ^{ns}
CV (%)	15,98	23,66	4,63	4,21	8,19	7
Média geral	92,47	80,96	17	18	18	32

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

O número de grãos por espiga (GE), massa de espiga de milho (ME) e massa de cem grãos (MG) estão descritos na Tabela 5, onde pode-se observar que o número de grãos por espiga e massa de espiga em plantas de milho não sofreram influência, nos dois anos de experimentação (2014 e 2015), do cultivo da cultura após as coberturas vegetais ou pelos modos de inoculação com *A. brasilense*.

Já para a massa de cem grãos houve interação entre os modos de inoculação e coberturas vegetais, o desdobramento encontra-se na Tabela 6, onde para coberturas vegetais dentro de inoculação, o cultivo de *C. spectabilis* proporcionou maior massa de cem grãos de milho (22,04 g) quando feito inoculação foliar com *A. brasilense* comparando com a testemunha (18,81 g). No cultivo do milho após a *U. ruziziensis* a inoculação com de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) apresentou maior massa de cem grãos (24,41 g) quando comparado a inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) (20,58 g) e inoculação

de *A. brasilense* nas sementes de milho (21,29 g). Já para o cultivo do milho após o consórcio entre *C. spectabilis* e *U. ruziziensis* a inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho (23,73 g) foi maior quando comparada a testemunha (20,08).

Para a inoculação dentro de coberturas vegetais, a testemunha (sem inoculação de *A. brasilense*) proporcionou maior massa de cem grãos quando o milho foi cultivado após a *U. ruziziensis* (23,46 g). A inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) no milho cultivado após a *U. ruziziensis* apresentou maior massa de cem grãos (24,41 g) quando comparada a massa de cem grãos de plantas cultivada após a *C. spectabilis*.

Tabela 5 - Valores médios de números de grãos por espiga de milho (GE), massa de espiga de milho (ME) e valores médios de massa de cem grãos (MG) em função de coberturas vegetais e formas de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Plantio Direto. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	GE		ME (g espiga ⁻¹)		MG (g)	
Coberturas vegetais (C)	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	493	584	115,35	115,00	24,69	20,95
<i>Urochloa</i>	481	579	126,20	117,05	27,21	22,43
<i>Crot</i> + <i>Uroc</i>	469	581	121,55	124,15	25,88	22,24
DMS	-	-	-	-	-	1,35
Inoculação (I)						
T	479	568	111,20	125,93	25,93	20,78
AF	472	579	123,55	118,33	24,88	21,70
AS	500	591	120,50	113,63	26,80	22,13
AS + AF	471	587	129,20	117,03	26,09	22,90
DMS	-	-	-	-	-	1,72
Teste F ⁽¹⁾						
C	0,96 ^{ns}	0,04 ^{ns}	1,31 ^{ns}	2,96 ^{ns}	1,26 ^{ns}	4,23*
I	0,89 ^{ns}	0,47 ^{ns}	1,84 ^{ns}	2,59 ^{ns}	0,37 ^{ns}	3,83*
C*I	0,93 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,61 ^{ns}	1,47 ^{ns}	1,36 ^{ns}	4,42*
CV (%)	10,34	9,00	15,69	9,41	17,24	7,15
Média geral	481	581	121,05	118,73	25,93	21,88

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot* + *Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

Tabela 6 -Desdobramento da interação entre inoculação de plantas de milho e coberturas vegetais na massa de cem grãos de milho em função de formas de inoculação com *Azospirillum brasilense* e coberturas vegetais em sistema plantio direto. Selvíria, MS, 2015.

Inoculação	Massa de cem grãos		
	Coberturas		
	<i>Crotalária</i>	<i>Urochloa</i>	<i>Crotalaria + Urochloa</i>
T	18,81 B b	23,46 A ab	20,08 B b
AF	22,04 a	20,58 b	22,48 ab
AS	21,38 ab	21,29 b	23,73 a
AS+AF	21,60 B ab	24,41 A a	22,69 AB ab
DMS	Coberturas dentro de inoculação – 2,71		
	Inoculação dentro de coberturas – 2,98		

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey.

Fonte: da própria autora.

Na Tabela 7 estão descritos os valores médios de N foliar de milho e número mais provável de bactérias diazotróficas associativas na rizosfera de plantas de milho (NMP) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *A. brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Plantio Direto. Nos dois anos de cultivo o N foliar do milho não foi influenciado tanto pelas coberturas vegetais como pelos modos de inoculação com *A. brasilense*.

O número mais provável de bactérias diazotróficas associativas na rizosfera da planta de milho não foi alterada pelos modos de inoculação com *A. brasilense*, seja na testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*), na inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄), na inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho, ou na inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). Porém as coberturas vegetais antecessoras ao milho, provocou influência no NMP, onde as plantas de milho cultivadas após a *U. ruziziensis* apresentou um maior número de bactérias com $2,14 \times 10^{-5}$ e $2,79 \times 10^{-5}$ número de células viáveis por grama de solo (nº cel. g solo⁻¹), em 2014 e 2015, respectivamente, quando comparada a rizosfera das plantas de milho cultivadas após a *C. spectabilis* com $0,98 \times 10^{-5}$ nº cel. g solo⁻¹ em 2014 e $0,83 \times 10^{-5}$ nº cel. g solo⁻¹ em 2015.

As bactérias são atraídas pelas plantas através de exsudatos que os vegetais liberam para o reconhecimento, caminharmento e multiplicação do microrganismo até eles, esse fenômeno é denominado como quimiotaxia. A composição e quantidade dessas substâncias são influenciados pela espécie e até mesmo genótipo da planta, servindo como fonte de carbono (frutose, malato, piruvato) e sendo ou não atrativo para as bactérias (QUADROS, 2009). Quanto

à sobrevivência deste microorganismo, sabe-se que o *A. brasilense* tem baixa capacidade de sobreviver por períodos prolongados de tempo na maioria dos solos (BASI, 2013), como a *U. ruziziensis* é uma gramínea, as substâncias liberadas por essas plantas durante seu ciclo e decomposição pode ter condicionado a microbiota do solo a favor do *A. brasilense*, beneficiando seu estabelecimento na rizosfera da cultura sucessora, no caso, o milho segunda safra.

Tabela 7 - Valores médios de nitrogênio foliar de milho e número mais provável de bactérias diazotróficas associativas na rizosfera da planta de milho (NMP) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Plantio Direto. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos Coberturas vegetais (C)	N foliar (g kg ⁻¹)		NMP ⁽²⁾ (10 ⁵ n° cel. g solo ⁻¹)	
	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	28,07	17,28	0,98 b	0,83 b
<i>Urochloa</i>	28,99	16,93	2,14 a	2,79 a
<i>Crot + Uroc</i>	29,17	17,71	1,55 ab	1,45 ab
DMS	-	-	1,14	1,56
Inoculação (I)				
T	26,14	16,57	1,79	1,30
AF	28,99	16,89	1,26	1,31
AS	30,08	17,76	1,83	2,59
AS + AF	29,73	18,01	1,35	1,57
DMS	-	-	-	-
Teste F⁽¹⁾				
C	0,27 ^{ns}	1,28 ^{ns}	3,34*	7,29 ^{ns}
I	1,90 ^{ns}	2,98 ^{ns}	0,39 ^{ns}	1,58 ^{ns}
C*I	0,61 ^{ns}	1,07 ^{ns}	1,14 ^{ns}	0,67 ^{ns}
CV (%)	13,54	6,88	21,65	22,31
Média geral	28,73	17,31	1,56	1,59

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ⁽²⁾ transformação $\log \sqrt{x+1}$. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

Os valores médios da população final de plantas e produtividade de grãos de milho em função dos modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* e coberturas vegetais em Sistema Plantio Direto estão disponíveis na Tabela 8, e não foram influenciados pelos tratamentos realizados na cultura nos dois anos de condução do experimento.

Tabela 8 - Valores médios de população final de plantas de milho e produtividade de grãos de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Plantio Direto. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	População final		Produtividade de grãos	
	(plantas ha ⁻¹)		(kg ha ⁻¹)	
Coberturas vegetais (C)	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	53.934	61.920	3.849	3.808
<i>Urochloa</i>	54.860	67.360	3.710	4.283
<i>Crot + Uroc</i>	51.966	61.110	3.634	4.092
DMS	-	-	-	-
Inoculação (I)				
T	52.622	58.796	3.656	4.012
AF	54.320	64.043	3.451	4.140
AS	53.084	66.820	3.782	4.115
AS + AF	54.320	64.197	4.035	3.970
DMS	-	-	-	-
Teste F ⁽¹⁾				
C	0,41 ^{ns}	1,45 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,87 ^{ns}
I	0,10 ^{ns}	1,07 ^{ns}	1,66 ^{ns}	0,07 ^{ns}
C*I	0,36 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,50 ^{ns}
CV (%)	17,16	17,12	17,58	25,57
Média geral	53.586	63.463	3.731	4.059

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * significativo a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

4.2 COBERTURAS VEGETAIS E MODOS DE INOCULAÇÃO COM *A. BRASILENSE* EM MILHO SEGUNDA SAFRA CULTIVADO EM SISTEMA CULTIVO MÍNIMO.

Na Tabela 9 estão apresentados os dados de massa seca departe aérea de plantas (MSP), nitrogênio de plantas (NP) e nitrogênio acumulado (NA) em coberturas vegetais sob Sistema Cultivo mínimo do solo. Nos dois anos de experimentação a MSP e na das coberturas vegetais não apresentaram diferença. Para o teor de nitrogênio nas plantas de cobertura, a espécie *C. spectabilis* obteve maiores médias (23,82 e 23,99 g de N por kg de planta, em 2014 e 2015, respectivamente), em comparação ao consórcio de *C. spectabilis* + *U. ruziziensis* (14,53 e 15,10 g de N por kg de planta, em 2014 e 2015, respectivamente).

Tabela 9 - Massa seca de plantas (MSP), nitrogênio de plantas (NP) e nitrogênio acumulado em coberturas vegetais cultivadas em Cultivo mínimo do solo. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Coberturas vegetais	MSP (kg ha ⁻¹)		NP (g kg ⁻¹)		NA (kg ha ⁻¹)	
	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	4.820	9.825	23,82 a	23,99 a	113,93	266,28
<i>Urochloa</i>	6.205	10.700	15,51 b	16,57 ab	94,44	155,96
<i>Crot + Uroc</i>	6.354	10.650	14,53 b	15,10 b	91,53	161,10
DMS	-	-	2,74	8,03	-	-
Teste de F ⁽¹⁾	2,85 ^{ns}	0,15 ^{ns}	42,76*	6,62**	2,39 ^{ns}	2,82 ^{ns}
CV (%)	24,45	24,22	12,30	19,96	22,31	38,10
Média geral	5.793	10.392	17,95	18,55	99,97	194,45

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*)⁽¹⁾Teste F: * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

Os valores médios de altura de plantas de milho, altura de inserção da primeira espiga e diâmetro do colmo de plantas de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra sob Cultivo mínimo do solo estão descritos na Tabela 10. O milho cultivado em 2014 e 2015 após as coberturas vegetais e inoculado ou não com *A. brasilense*, seja em semeadura ou foliar, não sofreu influência na altura de plantas e diâmetro de colmo de plantas. Para a altura de inserção de espiga, em 2015, as plantas cultivadas após as coberturas vegetais *C. spectabilis* (1,08 m) e o consórcio de *C. spectabilis* + *U. ruziziensis* (1,09 m), apresentaram maiores médias em relação as plantas cultivadas após a *U. ruziziensis* (1,02 m).

Tabela 10 - Valores médios de altura de plantas de milho (AP), altura de inserção da primeira espiga (AE) e diâmetro do colmo (DC) de plantas de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Cultivo mínimo do solo. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	AP (m)		AE (m)		DC (mm)	
Coberturas vegetais (C)	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	1,93	2,09	1,07	1,08 a	21,72	19,60
<i>Urochloa</i>	1,90	2,03	1,05	1,02 b	21,43	18,80
<i>Crot + Uroc</i>	1,93	2,03	1,07	1,09 a	20,90	18,50
DMS	-	-	-	0,06	-	-
Inoculação (I)						
T	1,92	2,04	1,08	1,07	21,26	19,60
AF	1,94	2,06	1,06	1,07	21,49	19,47
AS	1,91	2,05	1,05	1,07	21,53	18,26
AS + AF	1,91	2,05	1,06	1,06	21,13	18,52
DMS	-	-	-	-	-	-
Teste F ⁽¹⁾						
C	0,40 ^{ns}	2,38 ^{ns}	0,73 ^{ns}	5,76*	1,80 ^{ns}	0,70 ^{ns}
I	0,30 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,66 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,72 ^{ns}
C*I	0,66 ^{ns}	0,47 ^{ns}	1,99 ^{ns}	1,95 ^{ns}	0,52 ^{ns}	0,09 ^{ns}
CV (%)	5,88	4,59	4,94	5,91	5,78	23,12
Média geral	1,92	2,05	1,06	1,07	21,35	69,86

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * significativo a 1% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

O número de fileiras de grãos em espiga e número de grãos por fileiras em espiga de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Cultivo mínimo do solo estão expostos na Tabela 11, para essas características os tratamentos aplicados ao milho não alteraram significativamente as médias.

Tabela 11- Valores médios de massa seca de parte aérea de plantas de milho (MPM), número de fileiras de grãos em espiga de milho (NFG) e número de grãos por fileiras em espiga de milho (NGF) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Cultivo mínimo do solo. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	MPM (g planta ⁻¹)			NFG		NGF	
Coberturas vegetais (C)	2014	2015	2014	2015	2014	2015	
<i>Crotalaria</i>	98,50	87,34 a	17	18	29	30	
<i>Urochloa</i>	98,06	79,38 ab	17	18	27	30	
<i>Crot + Uroc</i>	98,83	70,99 b	17	18	28	30	
DMS	-	11,94	-	-	-	-	
Inoculação (I)							
T	91,91	86,54 ab	17	18	28	31	
AF	98,70	88,43 a	17	18	28	31	
AS	99,98	72,61 bc	17	18	28	29	
AS + AF	99,36	69,38 c	17	18	28	29	
DMS	-	15,19	-	-	-	-	
Teste F ⁽¹⁾							
C	0,15 ^{ns}	5,61*	1,06 ^{ns}	0,70 ^{ns}	0,66 ^{ns}	0,04 ^{ns}	
I	0,76 ^{ns}	5,85*	1,72 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,16 ^{ns}	2,57 ^{ns}	
C*I	0,31 ^{ns}	1,65 ^{ns}	1,30 ^{ns}	0,86 ^{ns}	0,66 ^{ns}	0,27 ^{ns}	
CV (%)	15,30	17,43	4,01	4,31	11,18	9,45	
Média geral	97,49	79,24	17	18	28	30	

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * significativo a 1% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

Na Tabela 11 também constam as médias de massa seca de parte aérea de plantas de milho, onde em 2014 não houve influência dos tratamentos aplicados à essa característica avaliada. Porém, no ano de 2015, o milho cultivado após a *C. spectabilis* apresentou maior massa seca de plantas em relação ao milho cultivado após o consórcio de *C. spectabilis* + *U. ruziziensis*, 87,34 g por planta e 70,99 g por planta respectivamente. A *C. spectabilis* apresentou maior teor de nitrogênio 23,99 g por kg de planta (Tabela 9), e apesar das médias do nitrogênio acumulado na *Crotalaria* de não ser diferente, foi cerca de 40% superior em relação às demais plantas de cobertura, favorecendo o desenvolvimento e aporte de massa das plantas de milho pelo fornecimento de N através de sua decomposição, o que pode ter refletido no desenvolvimento e consequentemente massa seca de plantas de milho cultivado após essa cobertura vegetal. Em 2015 também houve influência dos modos de inoculação com *A.*

brasiliense na massa seca da parte aérea de plantas do milho, onde a aplicação do inoculante via foliar (em estágio fenológico V₄) proporcionou as plantas de milho maior massa seca de parte aérea com 88,43 g por planta, em relação à inoculação de *A. brasiliense* na semente e via foliar (em estágio fenológico V₄) com 69,38 g de massa seca de parte aérea por planta. Diferindo de Roberto; Silva; Lobato (2010) que avaliando a aplicação de diferentes doses de inoculante à base dessa bactéria em sementes de milho não observou incrementos no acúmulo de massa seca da parte aérea das plantas de milho.

Tabela 12 - Valores médios de números de grãos por espiga de milho (GE), massa de espiga de milho (ME) e valores médios de massa de cem grãos (MG) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasiliense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Cultivo mínimo do solo. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	GE		ME (g espiga ⁻¹)		MG (g)	
Coberturas vegetais (C)	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	470	543	120,35	106,83	25,66	20,23
<i>Urochloa</i>	461	543	137,25	109,70	28,03	20,16
<i>Crot + Uroc</i>	469	550	113,85	108,85	25,23	19,58
DMS	-	-	-	-	-	-
Inoculação (I)						
T	473	558	115,30	105,57	27,75	20,27
AF	460	572	118,00	106,80	26,86	20,00
AS	452	528	141,65	109,70	23,87	19,65
AS + AF	481	523	120,30	111,77	26,75	20,02
DMS	-	-	-	-	-	-
Teste F ⁽¹⁾						
C	0,09 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,80 ^{ns}	0,52 ^{ns}	1,32 ^{ns}	0,38 ^{ns}
I	0,39 ^{ns}	1,65 ^{ns}	0,60 ^{ns}	1,41 ^{ns}	1,23 ^{ns}	0,15 ^{ns}
C*I	0,66 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,64 ^{ns}	1,50 ^{ns}	0,87 ^{ns}	1,94 ^{ns}
CV (%)	15,18	11,67	43,55	7,55	19,96	11,42
Média geral	467	545	123,80	108,46	26,31	19,99

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasiliense*); AF – inoculação de *A. brasiliense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasiliense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasiliense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

As diferentes coberturas vegetais antecessoras ao milho e as formas de inoculação com *A. brasiliense* na cultura, não modificaram, nos dois anos de cultivo, os valores médios de números de grãos por espiga, massa de espiga e valores médios de massa de cem grãos de milho segunda safra cultivado em Sistema Cultivo mínimo do solo (Tabela 12).

Na Tabela 13 constam as médias de teor de nitrogênio foliar em milho, em 2014 e 2015, as quais não apresentam diferença, seja nas plantas de milho semeadas após as coberturas vegetais, *C. spectabilis*, *U. ruziziensis* e o consórcio de *C. spectabilis* + *U. ruziziensis*, ou nos modos de inoculação do milho com *A. brasilense*. Corroborando com o trabalho de Basi (2013), que avaliando diferentes modos de inoculação de *A. brasilense* em milho, não verificou diferença para os tratamentos sem inoculação, com inoculação na semente e com inoculação no sulco de semeadura.

Tabela 13 - Valores médios de nitrogênio foliar de milho e número mais provável de bactérias diazotróficas associativas na rizosfera da planta de milho (NMP) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Cultivo mínimo do solo. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	N foliar		NMP⁽²⁾	
Coberturas vegetais (C)	(g kg⁻¹)		(10⁻⁵ n° cel. g solo⁻¹)	
	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	28,41	17,99	1,97	1,79
<i>Urochloa</i>	28,41	17,72	0,62	1,04
<i>Crot + Uroc</i>	27,21	17,62	1,00	1,37
DMS	-	-	1,01	-
Inoculação (I)				
T	26,38	17,25	1,20	0,57 b
AF	27,02	17,81	1,14	1,41 ab
AS	29,15	18,18	1,22	1,82 a
AS + AF	29,48	17,87	1,23	1,80 a
DMS	-	-	-	1,29
Teste F⁽¹⁾				
C	0,41 ^{ns}	0,42 ^{ns}	6,69*	1,90 ^{ns}
I	1,55 ^{ns}	1,28 ^{ns}	0,02 ^{ns}	3,93**
C*I	0,32 ^{ns}	1,15 ^{ns}	3,91*	1,24 ^{ns}
CV (%)	13,26	5,74	19,88	18,82
Média geral	28,01	17,78	1,43	1,51

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ⁽²⁾ transformação log $\sqrt{(x+1)}$. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

Analisando o número mais provável de bactérias diazotróficas associativas na rizosfera da planta de milho, Tabela 13, em 2014 houve interação entre as coberturas vegetais antecessoras ao cultivo do milho e as formas de inoculação com *A. brasilense* na cultura, o desdobramento encontra-se na Tabela 14. Analisando as coberturas vegetais dentro de formas

de inoculação de *A. brasilense* no milho, observa-se que a rizosfera de plantas de milho cultivado após a *Crotalaria* continha maior população de bactérias diazotróficas quando não foi realizada a inoculação com as estirpes selecionadas do inoculante comercial de *A. brasilense* via foliar. Porém o milho cultivado após o consórcio entre *C. spectabilis* + *U. ruziziensis* apresentou maior população de bactérias diazotróficas na sua rizosfera quando as plantas de milho foram inoculadas com *A. brasilense* via foliar em comparação ao tratamento de *A. brasilense* na semente.

Avaliando coberturas dentro de formas de inoculação, pode-se observar que as plantas inoculadas com *A. brasilense* na semente e inoculadas com *A. brasilense* na semente e via foliar (estádio V₄) apresentaram maior população de bactérias em sua rizosfera quando o milho foi cultivado após a *C. spectabilis* (Tabela 14).

Tabela 14 - Desdobramento da interação entre inoculação de plantas de milho e coberturas vegetais no número mais provável de bactérias diazotróficas associativas na rizosfera da planta de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em sistema plantio direto. Selvíria, MS, 2015.

Inoculação	NMP ⁽¹⁾ (10 ⁻⁵ n° cel. g solo ⁻¹)			
	Coberturas			
	<i>Crotalaria</i> (C)	<i>Urochloa</i> (U)	<i>Crotalaria</i> + <i>Urochloa</i>	
T	2,68 a	0,91	0	b
AF	0,48 b	0,73	2,22	a
AS	2,68 A a	0,24 B	0,75 B	b
AS+AF	2,03 A ab	0,61 AB	1,05 B	ab
DMS	Coberturas dentro de inoculação – 2,71			
	Inoculação dentro de coberturas – 2,98			

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estádio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estádio V₄). ⁽¹⁾ transformação log $\sqrt{x+1}$. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey.

Fonte: da própria autora.

Nos dois anos de condução do experimento a população final de plantas (Tabela 15), não foi alterada pelas coberturas vegetais que antecederam o milho e também pelos modos de inoculação com *A. brasilense* na cultura.

Em 2015, o modo de inoculação do milho com *A. brasilense* (Tabela 15) proporcionou aumento da produtividade de grãos quando foi feito nas sementes de milho e via foliar (estádio V₄), atingindo 4.208 kg ha⁻¹, mais de 19% de acréscimo em relação as plantas que não foram inoculadas com *A. brasilense* (testemunha). A interação da planta de milho com as bactérias

diazotróficas pode ter favorecido o aumento da produtividade, pois a rizosfera das plantas inoculadas com *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) apresentaram maior população do microrganismo em relação à testemunha (Tabela 13). Assim, a bactéria pôde ter contribuído através da fixação biológica de nitrogênio, sendo que esse nutriente tem como uma de suas funções promover o desenvolvimento vegetativo, além de auxiliar no desenvolvimento radicular, fazendo com que haja maior volume de solo explorado (RAMOS et al., 2010), gerar benefícios inerentes à bactéria como promotora de crescimento de plantas e consequentemente favorecer o aumento da produtividade de grãos de milho.

Tabela 15 - Valores médios de população final de plantas de milho e produtividade de grãos de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema Cultivo mínimo do solo. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	População final		Produtividade de grãos	
	(plantas ha ⁻¹)		(kg ha ⁻¹)	
Coberturas vegetais (C)	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	46.916	61.120	3.134	3.457
<i>Urochloa</i>	50.230	62.847	3.353	3.641
<i>Crot</i> + <i>Uroc</i>	46.758	69.560	3.088	3.953
DMS	-	-	-	-
Inoculação (I)				
T	48.918	63.117	3.583	3.373 b
AF	47.992	63.888	3.067	3.462 ab
AS	48.918	62.125	3.065	4.207 ab
AS + AF	47.376	69.907	3.054	4.208 a
DMS	-	-	-	831
Teste F ⁽¹⁾				
C	0,65 ^{ns}	2,18 ^{ns}	0,35 ^{ns}	1,66 ^{ns}
I	0,09 ^{ns}	1,20 ^{ns}	0,91 ^{ns}	2,77*
C*I	0,30 ^{ns}	0,64 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,49 ^{ns}
CV (%)	18,03	14,74	29,61	21,15
Média geral	48.302	65.509	3.192	3.685

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot* + *Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * significativo a 6% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 6% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

4.3 COBERTURAS VEGETAIS E MODOS DE INOCULAÇÃO COM *A. BRASILENSE* EM MILHO SEGUNDA SAFRA CULTIVADO EM SISTEMA DE PREPARO CONVENCIONAL.

Na Tabela 16 constam as médias da massa seca de plantas, nitrogênio de plantas e nitrogênio acumulado em *C. spectabilis*, *U. ruziziensis* e no consórcio de *C. spectabilis* + *U. ruziziensis* cultivadas em Sistema Convencional de preparo do solo nos anos de 2014 e 2015. Para massa seca de plantas em 2014 houve diferença significativa, onde a cobertura vegetal *U. ruziziensis* teve o maior valor médio (6.381 kg ha^{-1}), quando comparada à *C. spectabilis* (4.284 kg ha^{-1}) e ao consórcio *C. spectabilis* + *U. ruziziensis* (4.745 kg ha^{-1}), produzindo mais de 6 t de massa seca de plantas por hectare.

No ano de 2015 não houve diferença estatística entre a *U. ruziziensis* ($11.000 \text{ kg ha}^{-1}$), a *C. spectabilis* (9.175 kg ha^{-1}) e consórcio *C. spectabilis* + *U. ruziziensis* ($10.525 \text{ kg ha}^{-1}$). As duas espécies de plantas de cobertura e o consórcio entre elas proporcionaram ao solo uma cobertura vegetal de mais de 9 toneladas por hectare manejadas aos 53 DAS. Valores superiores ao de Pacheco et al. (2011), que avaliando o desempenho de plantas de cobertura do solo quanto à fitomassa ao acúmulo e à liberação de nutrientes, durante a entressafra, em um LATOSSOLO VERMELHO Distroférico no Cerrado, obteve com a *U. ruziziensis* aos 90 DAS pouco mais de 6 t ha^{-1} .

A *C. spectabilis* teve maior teor de nitrogênio quando comparada as demais coberturas vegetais, 23,24 g de N por kg de planta em 2014 e 22,40 g de N por kg de planta em 2015 (Tabela 16). O que já era esperado, pois as leguminosas fazem simbiose com bactérias que fixam N_2 da atmosfera e acumulam na sua massa vegetal, enquanto que gramíneas, como a *U. ruziziensis*, por não fixarem o N_2 atmosférico, concentram menos esse nutriente na sua massa vegetal.

O maior acúmulo de massa de parte aérea de plantas de *U. ruziziensis* refletiu no nitrogênio acumulado por essa cobertura $104,14 \text{ kg de N por ha}^{-1}$ (Tabela 16), sendo, portanto, superior ao consórcio *C. spectabilis* + *U. ruziziensis* ($77,52 \text{ kg ha}^{-1}$) no ano de 2014.

Tabela 16 - Massa seca de parte aérea de plantas (MSP), nitrogênio de plantas (NP) e nitrogênio acumulado em coberturas vegetais cultivadas em preparo convencional de solo. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Coberturas vegetais	MSP (kg ha ⁻¹)		NP (g kg ⁻¹)		NA (kg ha ⁻¹)	
	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	4.284 b	11.000	23,24 a	22,40 a	99,38 ab	218,17
<i>Urochloa</i>	6.831 a	9.175	16,32 b	13,55 b	104,14 a	145,91
<i>Crot + Uroc</i>	4.745 b	10.525	16,51 b	14,11 b	77,52 b	153,51
DMS	1.345	-	3,25	4,27	22,41	-
Teste de F ⁽¹⁾	8,53*	0,73 ^{ns}	18,65*	25,33*	5,23*	2,01 ^{ns}
CV (%)	20,77	21,66	13,81	11,81	18,74	32,47
Média geral	5.136	10.233	18,69	16,68	93,68	172,53

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*)⁽¹⁾Teste F: * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

Na Tabela 17 estão descritos os valores médios de altura de plantas de milho, altura de inserção da primeira espiga e diâmetro do colmo de plantas de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado sistema convencional de preparo do solo. Em 2014 não foram observadas diferenças significativas para a altura de plantas de milho e altura de inserção da primeira espiga, tanto no cultivo do milho após as coberturas vegetais quanto na forma de inoculação com *A. brasilense* na semente ou via foliar e sem a inoculação. Em 2015, a altura de plantas e altura de inserção de espigas foi maior quando houve a inoculação nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) com *A. brasilense* (2,14 m de altura de plantas e 1,08 m de altura de espigas) em comparação à testemunha (sem inoculação de *A. brasilense*) (2,06 m de altura de plantas e 1,01 m de altura de espigas).

Diferindo de Lana et al. (2012) que não verificaram resultados distintos na altura de inserção da espiga nos tratamentos com e sem adubação de nitrogênio na semeadura e em cobertura e com e sem inoculação de *A. brasilense* nas sementes e conferiu essa propriedade como uma característica genética.

Já Kappes et al. (2013a) observaram maior altura de plantas e inserção da primeira espiga no tratamento com inoculação de *A. brasilense*, relacionando esse fato com as substâncias promotoras de crescimento produzidas pela bactéria, comparando com Bashan e Holguin (1997) que afirmam que esse estímulo é devido à produção de ácido indol-acético (AIA) pelo *A. brasilense*, sendo um fator importante ao crescimento de plantas. Plantas com inserção de espigas mais alta e com altura de plantas elevada apresentam vantagens na colheita,

segundo Possamai et al. (2001) as perdas e a pureza dos grãos na colheita mecanizada, dentre outros fatores, são diretamente influenciadas pela altura das plantas e, principalmente, pela altura de inserção da primeira espiga.

Para o diâmetro de colmo (Tabela 17), o cultivo do milho após a *C. spectabilis*, *U. ruziziensis* e após o consórcio de *C. spectabilis* + *U. ruziziensis*, e pelas formas de inoculação de milho com *A. brasilense*, nos dois anos de condução do experimento não sofreu influência dos tratamentos citados.

Tabela 17 - Valores médios de altura de plantas de milho (AP), altura de inserção da primeira espiga (AE) e diâmetro do colmo (DC) de plantas de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado sistema convencional de preparo de solo. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	AP (m)		AE (m)		DC (mm)	
Coberturas vegetais (C)	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	1,91	2,11	1,07	1,06	20,90	19,63
<i>Urochloa</i>	1,94	2,10	1,07	1,04	21,37	19,51
<i>Crot + Uroc</i>	1,94	2,09	1,09	1,04	20,51	18,95
DMS	-	-	-	-	-	-
Inoculação (I)						
T	1,91	2,06 b	1,08	1,01 b	20,99	19,71
AF	1,90	2,07 b	1,07	1,02 ab	20,85	19,18
AS	1,93	2,14 a	1,07	1,07 ab	20,88	19,13
AS + AF	1,98	2,14 a	1,08	1,08 a	20,99	19,45
DMS	-	0,06	-	0,07	-	-
Teste F ⁽¹⁾						
C	0,75 ^{ns}	0,75 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,37 ^{ns}	2,92 ^{ns}	0,71 ^{ns}
I	1,57 ^{ns}	8,62*	0,06 ^{ns}	3,29**	0,06 ^{ns}	0,30 ^{ns}
C*I	0,54 ^{ns}	0,82 ^{ns}	0,80 ^{ns}	0,39 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,33 ^{ns}
CV (%)	4,86	2,40	4,65	6,34	4,80	8,87
Média geral	1,93	2,10	1,08	1,05	20,93	19,37

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

A massa seca de plantas de milho no experimento do ano de 2015 (Tabela 18), foi favorecida pela inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) apresentando massa de 78,62 g por planta, cerca de 24% superior as plantas que não foram inoculadas com a bactéria (testemunha). O que difere de Verona et al. (2010) que não

observaram diferença significativa para massa seca de parte aérea de plantas de milho inoculadas, na presença ou não de fitorreguladores. Já Quadros et al. (2014), avaliando o desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*, também observaram que a massa de parte aérea de plantas dos híbridos estudados sofreu incremento pela inoculação com a bactéria diazotrófica.

Os tratamentos aplicados ao milho segunda safra não provocaram alteração no número de fileiras de grãos por espiga e no número de grãos por fileiras por espiga (Tabela 18) em 2014 e 2015.

Tabela 18 - Valores médios de massa de plantas de milho (MPM), número de fileiras de grãos em espiga de milho (NFG) e número de grãos por fileiras em espiga de milho (NGF) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em sistema convencional de preparo do solo. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	MPM (g planta ⁻¹)		NFG		NGF	
Coberturas vegetais (C)	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	93,81	71,78	17	18	29	31
<i>Urochloa</i>	96,65	70,75	17	18	29	32
<i>Crot + Uroc</i>	91,67	67,06	17	18	28	31
DMS	-	-	-	-	-	-
Inoculação (I)						
T	98,96	59,38 b	17	18	29	33
AF	93,67	65,49 ab	17	18	28	32
AS	90,44	75,95 ab	17	18	28	30
AS + AF	93,11	78,62 a	17	18	28	31
DMS	-	17,77	-	-	-	-
Teste F ⁽¹⁾						
C	0,61 ^{ns}	0,38 ^{ns}	1,20 ^{ns}	0,95 ^{ns}	0,82 ^{ns}	0,20 ^{ns}
I	0,94 ^{ns}	3,72*	0,44 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,65 ^{ns}	2,44 ^{ns}
C*I	0,45 ^{ns}	1,52 ^{ns}	0,96 ^{ns}	1,04 ^{ns}	0,21 ^{ns}	1,21 ^{ns}
CV (%)	13,52	23,12	4,30	4,08	8,95	8,56
Média geral	94,05	69,86	17	18	29	31

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. . * significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

A implantação de diferentes plantas antecessoras ao milho e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* nessa cultura, cultivado em sistema convencional de preparo de solo não induziram alteração no número de grãos por espiga de milho e na massa de espiga de milho

(Tabela 19). Diferindo de Araújo et al. (2014) que estudando o efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada sobre a produtividade do milho verde observaram diferença na massa de espigas entre os tratamentos que foram inoculados e não inoculados com *A. brasilense*, sendo superior os valores médios quando na presença dessa bactéria diazotrófica.

Para a massa de cem grãos, em 2015, a testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*) proporcionou maior valor de massa de cem grãos (21,35 g) quando comparado à massa de cem grãos das plantas de milho que foram inoculadas com *A. brasilense* nas sementes de milho (19,06 g) (Tabela 19), o que não era esperado, devido aos benefícios de promoção de crescimento dessa bactéria. Bactérias do gênero *Azospirillum* podem ser inoculadas em plantas de interesse agrônomo, estimulando seu crescimento por múltiplos mecanismos, incluindo síntese de fito-hormônio, melhoria da nutrição nitrogenada, mitigação de estresse e controle biológico da microbiota patogênica (BASHAN; BASHAN, 2010; QUADROS et al., 2014).

Tabela 19 - Valores médios de números de grãos por espiga de milho (GE), massa de espiga de milho (ME) e valores médios de massa de cem grãos (MG) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em sistema convencional de preparo de solo. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	GE		ME (g espiga ⁻¹)		MG (g)	
Coberturas vegetais (C)	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	485	573	118,70	111,76	24,16	20,33
<i>Urochloa</i>	485	572	116,35	116,38	25,29	20,84
<i>Crot + Uroc</i>	476	571	114,30	109,11	27,74	20,06
DMS	-	-	-	-	-	-
Inoculação (I)						
T	499	595	114,30	116,02	25,45	21,35 a
AF	476	580	119,05	116,78	27,15	20,74 ab
AS	472	549	122,95	110,93	25,89	19,06 b
AS + AF	482	564	109,45	105,93	24,42	20,49 ab
DMS	-	-	-	-	-	2,12
Teste F ⁽¹⁾						
C	0,14 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,31 ^{ns}	1,58 ^{ns}	2,43 ^{ns}	0,67 ^{ns}
I	0,64 ^{ns}	1,13 ^{ns}	1,63 ^{ns}	2,23 ^{ns}	0,69 ^{ns}	3,02*
C*I	0,20 ^{ns}	1,20 ^{ns}	1,12 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,26 ^{ns}	2,23 ^{ns}
CV (%)	10,91	10,37	13,66	10,41	18,25	9,46
Média geral	482	572	116,45	112,42	25,73	20,41

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

As formas de inoculação também não influenciaram no teor de nitrogênio nas plantas de milho (Tabela 20), discordando do resultado obtido por Portugal et al. (2012), no qual a aplicação de *A. brasilense* via foliar proporcionou maior teor de N foliar, atribuindo a fixação biológica de nitrogênio e o fato dessa bactéria contribuir para maior volume radicular. Marriel e Cardoso (2014) também observaram maior teor de N para o tratamento com inoculação de *A. brasilense*, uma vez que constataram aumento da atividade da redutase do nitrato para esse tratamento.

Tabela 20 - Valores médios de nitrogênio foliar de milho e mais provável de bactérias diazotróficas associativas na rizosfera da planta de milho (NMP) em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema convencional de preparo de solo. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	N foliar		NMP⁽²⁾	
Coberturas vegetais (C)	(g kg⁻¹)		(10⁻⁵ n° cel. g solo⁻¹)	
	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	28,55	18,31	1,80	1,66
<i>Urochloa</i>	27,29	18,71	0,90	1,54
<i>Crot + Uroc</i>	28,13	18,76	1,64	1,37
DMS	-	-	-	-
Inoculação (I)				
T	27,69	18,47	0,84	0,63 c
AF	28,03	18,55	1,76	1,85 ab
AS	27,98	18,89	0,83	1,07 bc
AS + AF	28,26	18,46	1,69	2,53 a
DMS	-	-	-	1,22
Teste F⁽¹⁾				
C	0,99 ^{ns}	0,91 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,37 ^{ns}
I	0,09 ^{ns}	0,44 ^{ns}	1,18 ^{ns}	8,94*
C*I	0,37 ^{ns}	2,37 ^{ns}	2,29 ^{ns}	2,10 ^{ns}
CV (%)	7,94	4,86	34,00	16,59
Média geral	27,99	18,59	1,47	1,55

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot + Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ⁽²⁾ transformação $\log \sqrt{(x+1)}$. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

A população final de plantas e a produtividade de milho não foram influenciadas pelas formas de inoculação com *Azospirillum brasilense* e coberturas vegetais em sistema convencional de preparo de solo (Tabela 21).

Tabela 21 - Valores médios de população final de plantas de milho e produtividade de grãos de milho em função de coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho segunda safra cultivado em Sistema convencional de preparo de solo. Selvíria, MS, 2014 e 2015.

Tratamentos	População final		Produtividade de grãos	
	(plantas ha ⁻¹)		(kg ha ⁻¹)	
Coberturas vegetais (C)	2014	2015	2014	2015
<i>Crotalaria</i>	51.736	60.531	3.383	3.569
<i>Urochloa</i>	49.188	64.120	3.483	3.879
<i>Crot</i> + <i>Uroc</i>	52.776	65.393	3.399	3.749
DMS	-	-	-	-
Inoculação (I)				
T	49.844	64.660	3.226	4.011
AF	50.616	62.036	3.553	3.892
AS	50.924	64.968	3.271	3.711
AS + AF	53.548	61.728	3.635	3.314
DMS	-	-	-	-
Teste F ⁽¹⁾				
C	1,20 ^{ns}	1,01 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,49 ^{ns}
I	0,68 ^{ns}	0,35 ^{ns}	1,20 ^{ns}	1,39 ^{ns}
C*I	0,58 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,80 ^{ns}	0,40 ^{ns}
CV (%)	13,14	15,82	18,73	23,97
Média geral	51.234	63.348	3.422	3.732

Crotalaria spectabilis (*Crotalaria*), *Urochloa ruziziensis* (*Urochloa*), *Crotalaria spectabilis* + *Urochloa ruziziensis* (*Crot* + *Uroc*) T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental.

Fonte: da própria autora.

5 CONCLUSÕES

5.1 COBERTURAS VEGETAIS E MODOS DE INOCULAÇÃO COM *A. BRASILENSE* EM MILHO SEGUNDA SAFRA CULTIVADO EM SISTEMA PLANTIO DIRETO

As coberturas vegetais proporcionaram obtenção de biomassa adequada para a manutenção de palha no sistema plantio direto. A *Crotalaria spectabilis* obteve os maiores teores de nitrogênio nas plantas e N acumulado, proporcionando as plantas de milho cultivadas após essa cobertura, maior altura de inserção de espigas. As plantas de milho cultivadas após a *Urochloa ruziziensis* apresentaram maior número de bactérias com células viáveis por grama de solo.

Os valores médios da população final de plantas e produtividade de grãos de milho em função de formas de inoculação com *Azospirillum brasilense* e coberturas vegetais não foram influenciados pelos tratamentos realizados na cultura nos dois anos de condução do experimento.

5.2 COBERTURAS VEGETAIS E MODOS DE INOCULAÇÃO COM *A. BRASILENSE* EM MILHO SEGUNDA SAFRA CULTIVADO EM SISTEMA CULTIVO MÍNIMO.

As coberturas vegetais proporcionaram biomassa adequada para a manutenção de palha o cultivo mínimo de preparo do solo. Para o teor de nitrogênio nas plantas de cobertura, a espécie *Crotalaria spectabilis* apresentou maiores médias proporcionando as plantas de milho maior altura de inserção de espiga, maior massa de plantas e maior população de bactérias diazotróficas.

A inoculação com *Azospirillum brasilense* via foliar proporcionou às plantas de milho maior massa seca de parte aérea. O modo de inoculação do milho com *Azospirillum brasilense* proporcionou aumento da produtividade de grãos quando essa foi feita nas sementes de milho e via foliar.

5.3 COBERTURAS VEGETAIS E MODOS DE INOCULAÇÃO COM *A. BRASILENSE* EM MILHO SEGUNDA SAFRA CULTIVADO EM SISTEMA DE PREPARO CONVENCIONAL.

A massa seca de plantas de *Urochloa ruziziensis* teve o maior valor médio e o maior acúmulo de nitrogênio em comparação às outras duas coberturas vegetais.

A altura de plantas e de inserção de espigas foram maiores quando houve a inoculação nas sementes de milho e via foliar com *Azosporillum brasilense*. O modo de inoculação com *A. brasilense* na cultura do milho não influenciou a produtividade da cultura

REFERÊNCIAS

- ADEGAS, F. S.; VOLL, E.; GAZZIERO, D. L. P. Manejo de plantas daninhas em milho safrinha em cultivo solteiro ou consorciado à *Braquiária ruziziensis*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 46, n. 10, p. 1226-1233, 2011.
- AITA, C.; GIACOMINI, S. J. Plantas de cobertura de solo em sistemas agrícolas. In: ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; AITA, C.; BODDEY, R. M.; JANTALIA, C. P.; CAMARGO, F. A. O. (Ed). **Manejo de sistemas agrícolas: impacto no sequestro de C e nas emissões de gases de efeito estufa**. Porto Alegre: Genesis, 2006. p. 59-79.
- ALBUQUERQUE, A.W. de; SANTOS, J. R.; MOURA FILHO, G.; REIS, L. S. Plantas de cobertura e adubação nitrogenada na produção de milho em sistema de plantio direto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 7, p. 721-726, 2013.
- ARAÚJO, R. M.; ARAÚJO, S. F.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. V. B.; Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 9, p. 1556-1560, 2014.
- ANDRADE, R. S.; STONE, L. F.; SILVEIRA, P. M. Culturas de cobertura e qualidade física de um Latossolo em plantio direto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 13, n. 4, p. 411-418, 2009.
- ANDRIOLI, I.; BEUTLER, A. N.; CENTURION, J. F.; ANDRIOLI, F. F.; COUTINHO, E. L. M. Produção de milho em plantio direto com adubação nitrogenada e cobertura do solo na pré-safra. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 2, p. 1691-1698, 2008.
- 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.). **Revista Grupo Integrado**, Campo Mourão, v. 5, n. 1, p. 56-59, 2010.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, n. 2, p. 103–121. 1997.
- 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. 1, p. 77-136. 2010.
- BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura de milho**. 2013. 50 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade Cedeteg, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.
- BAYER, C.; SPAGNOLLO, E.; WILDNER, L. P.; ERNANI, P. R.; ALBUQUERQUE, J. A. Incremento de carbono e nitrogênio num latossolo pelo uso de plantas estivais para cobertura do solo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 3, p. 469-475, 2003.

- BAYER, C.; MARTI-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; PAVINATO, A. Armazenamento de carbono em frações lábeis da matéria orgânica de um Latossolo Vermelho sob plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, DF, v. 39, n. 7, p. 677-683, 2004.
- BERTOL, I.; COGO, N. P.; BARBOSA, F. T.; SCHINCK, J. Manejo e conservação do solo e da água no Brasil: restropectiva e projeção para o futuro. In: LEITE, L. F. C.; MACIEL, G. A.; ARAÚJO, A. S. F. (Ed.). **Agricultura Conservacionista no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 598 p.
- BEUTLER, A. N.; CENTURION, J. F. Matéria seca e altura das plantas de soja e arroz em função do grau de compactação e do teor de água de dois latossolos. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 142-149, 2004.
- BOLSON, E.; SCAPIM, C. A.; CLOVIS, L. R. AMARAL JUNIOR, A. T.; FREITAS, I. L. J. Capacidade combinatória de linhagens de milho avaliada por meio de testadores adaptados à safrinha. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n. 4, p. 492-501, 2016.
- BORGHI, E.; COSTA, N. V.; CRUSCIOL, C. A. C.; MATEUS, G. P. Influência da distribuição espacial do milho e da *Brachiaria brizantha* consorciados sobre a população de plantas daninhas em sistema plantio direto na palha. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 3, p. 559-568, 2008.
- BURDMAN, S.; VOLPIN, H.; KIGEL, L.; KAPULNIK, Y; OKON, Y. Promotion of nod-gene inducens and nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris*) roots inoculated with *Azospirillum brasilense* Cd. **Applied Environmental Microbiology**, Whasington, v. 62, n. 8, p. 3030-3033. 1996.
- CANTARELLA, H.; DUARTE, A. P. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (Ed.). **Tecnologias de produção do milho**. Viçosa: UFV, 2004. p. 139-182.
- CANTARELLA, H.; FURLANI, P.R. Arroz de sequeiro. In: RAIJ, B.van; CANTARELLA, H.; GUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Coord.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônômico & Fundação IAC, 1996. 285 p.
- CARNEIRO, M. A. C.; SOUZA, E. D. E.; REIS, E.F. dos; PEREIRA, H. S.; AZEVEDO, W. R. D. E. Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 147-157, 2009.
- CARVALHO, A. M.; COSER, T. R.; REIN, T. A.; DANTAS, R. A.; SILVA, R. R.; SOUZA, K. W. Manejo de plantas de cobertura na floração e na maturação fisiológica e seu efeito na produtividade do milho. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 50, n. 7, p. 551-561, jul. 2015.
- CASSÁN, F.; SGROY, V.; PERRIG, D.; MASCIARELLI, O.; LUNA, V. Producción de fitohormonas por *Azospirillum* sp. Aspectos fisiológicos y tecnológicos de la promoción

del crecimiento vegetal. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.). ***Azospirillum* sp.:** cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 61-86.

CAVALLET, L. E.; PESSOA, A. C. S.; HELMICH, J. J.; HELMICH, P. R.; OST, C. F. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 129-132, 2000.

CHRISÓSTOMO, I. G.; LANNA, A. C.; GODOY, S. G.; ROSA, J. R.; DIDONET, A. D. N total e C orgânico do solo em transição para a produção orgânica de arroz de terras altas (*Oriza sativa* L.) no cerrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CADEIA PRODUTIVA DE ARROZ, 2., 2006; REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE ARROZ– RENAPA, 8., 2006, Brasília. **Anais...** Santo Antônio de Goiás : Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 1CD ROM. ISSN 1678-9644.

COLLIER, L. S.; CASTRO, D. V.; DIAS NETO, J. J.; BRITO, D. R.; RIBEIRO, P. A. de A. Manejo da adubação nitrogenada para o milho sob palhada de leguminosas em plantio direto em Gurupi, TO. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1100-1105, 2006.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO– CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira:** grãos, intenção de plantio, segundo levantamento, novembro 2009 / Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília: CONAB, 2009. 152 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO– CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira:** grãos, intenção de plantio, sexto levantamento, junho de 2016 / Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília: CONAB, 2016. 152 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO– CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira:** grãos, intenção de plantio, oitavo levantamento, maio de 2018 / Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília: CONAB, 2018 142 p.

COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. S. F.; NAVES, D. C. F.; SANTOS, C. B.; ROCHA, A. F. S. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of second-harvest maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 304-311, 2015.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; DUARTE, A. P. **Milho safrinha.** [S.l.]: EMBRAPA: Agência EMBRAPA de informação e tecnologia, ano de publicação. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/CONT000fya0krse02wx5ok0pvo4k3mp7ztkf.html>. Acessado em: 10 nov 2016.

CUNHA, E. Q.; STONE, L. F.; FERREIRA, E. P. B.; DIDONET, A. D.; MOREIRA, J. A. A.; LENADRO, W. M. Sistemas de preparo do solo e culturas de cobertura na produção orgânica de feijão e milho. II - Atributos biológicos do solo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 2, p. 603-611, 2011.

DADALTO, J. P.; FERNANDES, H. C.; TEIXEIRA, M. M.; CECON, P. R.; MATOS, A. T. Sistemas de preparo de solo e sua influência na atividade microbiana. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 35, n. 3, p. 506-513, 2015.

DERNARDIN, J. E.; KOCHHANN, R. A.; FAGANELLO, A.; COGO, N. P. Agricultura Conservacionista no Brasil: Uma análise do conceito à adoção. In: LEITE, L. F. C.; MACIEL, G. A.; ARAÚJO, A. S. F. (Ed.). **Agricultura Conservacionista no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2014.

DOBEREINER, J; BALDANI, J. I; BALDANI, V. L. D. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas**. Brasília: EMBRAPA- SPI, 1995. 60 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.

FANCELLI, A. L.; FAVARIN, J. L. Desempenho da cultura do milho em plantio direto e convencional. In: FANCELLI, A. L. (Coord.). **Plantio direto no Estado de São Paulo**. Piracicaba: Esalq, 1989. p. 174-175.

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DE PLANTIO DIRETO NA PALHA- FEBRAPDP. **Evolução da área cultivada em sistema plantio direto na palha no Brasil**. Ponta Grossa: [s.n.], 2012. Disponível em: http://www.febrapdp.org.br/download/PD_Brasil_2013.I.pdf. Acessado em: 17 fev 2015.

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

FERREIRA, P. A. Tecnologias aplicadas ao planejamento de projetos hidroagrícolas. In: SILVA, D.D.; PRUSKI, F.F. (Ed.). **Recursos hídricos e desenvolvimento sustentável da agricultura**. Brasília: MMA, SRH, ABEAS, 1997. p. 191-207.

FERREIRA, V. E. N.; KAPPES, C.; VIDOTI, L. M.; KANACILO JUNIOR, W. Avaliação das características morfológicas do milho safrinha em resposta à inoculação de sementes com *Azospirillum Brasilense* e nitrogênio em cobertura. In: SEMINÁRIO NACIONAL MILHO SAFRINHA: ESTABILIDADE E PRODUTIVIDADE. EMBRAPA E UFGD, 13., 2013, Dourados. **Resumo...** Dourados: [s.n.], 2013.

FIGUEIREDO, M. V. B. et al. Potential Impact of biological nitrogen fixation and organic fertilization on corn growth and yield in low external input systems. In: DANFORTH, A.T. (Ed.). **Corn crop production growth, fertilization and yield**. New York: Nova Science Publisher, 2009. p. 227-255.

FIGUEIREDO, M. V. B.; SOBRAL, J. K.; STAMFORD, T. L. M.; ARAÚJO J. M. Bactérias promotoras do crescimento de plantas: estratégia para uma agricultura sustentável. In: FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; OLIVEIRA, J. P.; SANTOS, C. E. R.

S.; STAMFORD, N. P. (Ed.). **Biotecnologia aplicada à agricultura**: textos de apoio e protocolos experimentais. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 761 p.

FRAGA JUNIOR, E. F.; TEIXEIRA, C. M.; CARVALHO, G. J.; ANDRADE, M. J. B.; SILVA, C. A.; BOTREL, E. P. Crescimento e rendimento do feijoeiro, sob influencia de nitrogênio e palhadas e milheto solteiro e consorciado com crotalaria. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., 2008, Campinas. **Resumos...** Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, 2008. p. 1216-1219.

GAZOLA, D.; ZUCARELI, C.; SILVA, R. R.; FONSECA, I. C. B. Aplicação foliar de aminoácidos e adubação nitrogenada de cobertura na cultura do milho safrinha. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 7, p. 700–707, 2014.

GIACOMINI, S. J.; AITA, C.; VENDRUSCOLO, E. R. O.; CUBILLA, M.; NICOLOSO, R. S.; FRIES, M. R. Matéria seca, relação C/N e acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio em misturas de coberturas vegetais de solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 27, n. 2, p. 325-334, 2003.

GODOY, J. C. S.; WATANABE, S. H.; FIORI, C. C. L.; GUARIDO, R. C. Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio com e sem inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. **Campo Digital**, Campo Mourão, v. 6, p. 26-30. Disponível em: <<http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/campodigital/article/view/980>>. Acesso em: 10 fev 2016.

HECKLER, J. C.; SALTON J. C. **Palha**: fundamento do sistema plantio direto. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2002. 26 p. (Coleção Sistema Plantio Direto).

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. (Documentos, 283).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M. S.; PEDROSA, F. 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, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. – (Documentos, 325). ISSN 1516-781X. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/doc325.pdf>>. Acessado em: Jul 2013.

ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Soil quality indicator properties in mid-Atlantic soils as influenced by conservation management. **Journal Soil Water Conservation**, Iowa, v. 55, n 1, p. 69-79, 2000.

KANEKO, F. H.; SABUNDJIAN, M. T.; FERREIRA, J. P.; GITTI, D. C.; NASCIMENTO, V.; LEAL, A. J. F.; BUZETTI, S.; REIS, A. R. dos; ARF, O. Synergistic effects of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen sources on double cropped maize production in tropical savanna of Brazil. **Australian Journal of Crop Science**, Brisbane, v. 10, n. 1, p. 1061-1068, 2016.

- KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; DAL BEM, E. A.; PORTUGAL, J. R.; VILELA, R. G. Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 527-538, 2013a.
- KAPPES, C.; ZANCANARO, L.; LOPES, A. A.; KOCH, C. V.; FUJIMOTO, G. R.; FERREIRA, V. E. N. Aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura no milho safrinha. In: SEMINÁRIO NACIONAL MILHO SAFRINHA: ESTABILIDADE E PRODUTIVIDADE, 12., 2013, Dourados. **Resumo...** Dourados: EMBRAPA E UFGD, 2013b. p. 1-6.
- LANA, M. C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. Inoculation with *Azospirillum* associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012.
- LISBOA, B. B.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, A. O.; MARTINS, A. F.; SELBACH, P. A. Indicadores Microbianos de Qualidade do Solo em Diferentes Sistemas de Manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 36, n. 1, p. 45-55, 2012.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.
- MALUF, H. J. G. M.; SOARES, E. M. B.; SILVA, I. R. S.; NEVES, J. C. L.; SILVA, L. O. G. Decomposição de Resíduos de Culturas e Mineralização de Nutrientes em Solo com Diferentes Texturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v.39, n.2, p.1681-1689, 2015.
- MENEZES, L. A. S.; LEANDRO, W. M.; Avaliação de espécies de coberturas do solo com potencial de uso em sistema de plantio direto. **Pesquisa agropecuária tropical**, Goiânia, v. 34, n. 3, p. 173-180, 2004.
- MORAIS, T. P.; BRITO, C. H.; FERREIRA, A. S.; LUZ, J. M. Q. Aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímico do solo em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n. 6, p. 589-596, 2015.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.
- 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, n. 4, p. 1687- 1698, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n4Sup1p1687>>. Acesso em: 19 dez 2014. doi: 10.5433/1679-0359.2011v32n4Sup1p1687.
- OLIVEIRA, M. F.; CRUZ, J. C.; ALVARENGA, R. C.; TRINDADE, R. S.; OLIVEIRA, A. C. Produtividades de milho em sucessivos anos e diferentes sistemas de preparo de solo. In: XII SEMINÁRIO NACIONAL MILHO SAFRINHA: ESTABILIDADE E PRODUTIVIDADE, 12., Dourados, 2013. **Resumo...** Dourados: EMBRAPA E UFGD, 2013
- OLIVEIRA, T. K.; CARVALHO, G. J.; MORAES, R. N. S. Coberturas vegetais e seus efeitos sobre o feijoeiro em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 8, p. 1079-1087, 2002.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZÁLEZ, C. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 1591-1601. 1994.

PACHECO, L. P.; PIRES, F. R.; MONTEIRO, F. P.; PROCÓPIO, S. O.; ASSIS R. L.; CARMO, M. L.; PETTER, F. A. Desempenho de plantas de cobertura em sobressemeadura na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 2, p. 815-23. 2008.

PACHECO, L. P.; LEANDRO, W. M.; MACHADO, P. L. O. A.; ASSIS, R. L.; COBUCCI, T.; MADARI, B. E.; PETTER, F. A. Produção de fitomassa e acúmulo e liberação de nutrientes por plantas de cobertura na safrinha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 1, p. 17-25, jan. 2011.

PAULINO, P. S. **Atributos físicos como indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo no Estado de Santa Catarina**, 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo) - Faculdade Centro de Ciências da Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Lages, 2013.

PORTUGAL, J. R., PERES, A. R., RODRIGUES, R. A. F. . Aspectos climáticos no feijoeiro. In: ARF, O.; LEMOS, L. B.; SORATTO, R. P.; FERRARI, S. (Ed.). **Aspectos gerais da cultura do feijão *Phaseolus vulgaris* L.** Botucatu: FEPAF, 2015. p. 65-75.

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.

POSSAMAI, J. M.; SOUZA DE, C. M.; GALVÃO, J. C. C. Sistemas de preparo do solo para o cultivo do milho safrinha. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 2, p. 79-82, 2001.

QUADROS, P. D. **Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo)- Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, F. S.; MACEDO, V.; ROEHS, 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. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônômico, 1996. 285 p. (Boletim Técnico, 100).

RAMOS, A. S.; SANTOS, T. M. C.; SANTANA, T. M.; GUEDES, E. L. F.; MONTALDO, Y. C. Ação do *Azospirillum lipoferum* no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Verde**, Mossoró, v. 5, n. 4, p. 113 – 117.2010.

REIS, V. M. **Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22 p. (Documentos, 232).

ROBERTO, V. M. O; SILVA, C. D.; LOBATO, P. N. Resposta da cultura do milho à aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28., 2010, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. p. 2429-2434.

ROCHA, P. R. R.; ARAÚJO, G. A. A.; CARNEIRO, J. E. S.; CECON, P. R.; LIMA, T. C. Efeito da adubação molibdica na cultura do feijão nos sistemas de plantio direto e convencional. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., Campinas. **Resumos...** Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2008. p. 1320- 1323.

RODRIGUES, G. B.; SÁ, M. E.; ARF, O.; VALÉRIO FILHO, W. V. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijoeiro cultivado em rotação com adubos verdes produzidos em cultivo solteiro, consorciado e adubação nitrogenada. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., 2008, Campinas. **Resumos...** C a m p i n a : Instituto Agronômico de Campinas, 2008.p. 677-680.

ROSA, D. P.; REICHERT, J. M.; MENTGES, M.; BARROS, C. A. P.; REINERT, D. J.; VIEIRA, D. A. Cultivo mínimo: efeito da compactação e deformação abaixo da atuação da ponteira do subsolador. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 11, p. 1199–1205, 2011.

SABUNDJIAN, M. T.; ARF, O.; KANEKO, F. H.; FERREIRA, J. P. Adubação nitrogenada em feijoeiro em sucessão a cultivo solteiro e consorciado de milho e *Urochloa ruziziensis*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 3, p. 292-299, 2013.

SCHUELTER, A. R.; BRENNER, D. **Precocidade na safrinha: o mito e a realidade**. Pionner Du Pont: Toledo, 2009. Disponível em: <<http://www.pioneersementes.com.br/ArtigosDetalhe.aspx?Id=121>>. Acesso em: 30 nov. 2013.

SILVA, A. G.; FRANCISCHINI, R. Sistemas de produção de milho safrinha em Goiás. In: SEMINÁRIO NACIONAL MILHO SAFRINHA: ESTABILIDADE E PRODUTIVIDADE, 12., 2013, Dourados. **Palestra...** Dourados: EMBRAPA e UFGD, 2013.

SILVA, E. C.; SILVA, S. C.; BUZETTI, S. et al. Análise econômica do estudo de níveis e épocas de aplicação de nitrogênio na cultura de milho no sistema plantio direto em solo de cerrados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ADMINISTRAÇÃO RURAL, 5., Goiânia, 2001. **Anais...** Goiânia: ABAR, 2001. 1CD-ROM.

SILVA, E. C. da; MURAOKA, T.; BUZETTI, S.; TRIVELIN, P. C. O. Manejo de nitrogênio no milho sob plantio direto com diferentes plantas de cobertura, em latossolo vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF. v. 41, n.7, p. 477-486, 2006.

SILVEIRA, P. M.; STONE, L. F. Sistemas de preparo do solo e rotação de culturas na produtividade de milho, soja e trigo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 7, n.1, p. 240-244, 2003.

SPOLAOR, L. T.; GONÇALVES, L. S. A.; SANTOS, O. J. A. P.; OLIVEIRA, A. L. M.; SCAPIM, C. A.; BERTAGNA, M. C. K. Bactérias promotoras de crescimento associadas a adubação nitrogenada de cobertura no desempenho agrônomo de milho pipoca. **Bragantia**, Campinas, v. 75, n. 1, p. 33-40, 2016.

STEFFENS, M. B. R. **Caracterização morfofisiológica e genética de bactérias Endofíticas isoladas de raízes de diferentes genótipos de milho (*Zea mays* L.)**. 2010. 77 f. Dissertação (Mestrado em Genética) - Faculdade Universidade Federal do Paraná, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

TEIXEIRA, C. M.; CARVALHO, G. J.; FURTINI NETO, A. E.; ANDRADE, M. J. B.; MARQUES, E. L. S. Produção de biomassa e teor de macronutrientes do milheto,

feijão-de-porco e guandu-anão em cultivo solteiro e consorciado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 93-99, jan.-fev. 2005.

VERONA, D. A.; DUARTE JÚNIOR, J. B.; ROSSOL, C. D.; ZOZ, T.; COSTA, A. C. T. Tratamento de sementes de milho com Zeavit®, Stimulate® e inoculação com *Azospirillum* sp. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28., 2010, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. p. 3731-3737.

VOLTAM, F. S. **Avaliação de coberturas vegetais para plantio direto na cultura do algodão (*Gossypium hirsutum* r. *latifolium* Hutch cv. Acala 90)**. 2008. 73 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)- Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”- UNESP, Ilha Solteira, 2008.

WUTKE, E. B.; TRANI, P. E.; AMBROSANO, E. J.; DRUGOWICH, M. I. **Adubação verde no Estado de São Paulo**. Campinas: CATI, 2009. 89 p. (Boletim técnico, 249).

WUTKE, E. B.; CALEGARI, A.; WILDNER, L. do P. Espécies de adubos verdes e plantas de cobertura e recomendações para seu uso. In: LIMA FILHO, O. F. de; AMBROSANO, E. J.; ROSSI, F.; CARLOS, J.A.D. (Ed.). **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. Brasília: Embrapa, 2014. v. 1, p. 59-168.

Capítulo II – INFLUÊNCIA DOS MODOS DE INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* NO CRESCIMENTO DA CULTURA DO MILHO EM DIFERENTES ESTÁDIOS FENOLÓGICOS.

RESUMO

Avaliações que pontuem qual a real influência do *Azospirillum* na planta, é de extrema relevância; saber de qual forma e em qual momento do desenvolvimento da planta está sendo beneficiada pode ser um importante instrumento para o emprego correto da tecnologia e uma maior adoção, principalmente pela cadeia produtiva, da inoculação de plantas com bactérias promotoras de crescimento. Portanto o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência da inoculação com *A. brasilense* (sem inoculação – testemunha, semente, semente e via foliar V₄, e via foliar V₄) no crescimento e características fisiológicas do milho segunda safra ao longo do ciclo da cultura cultivado em preparo convencional. O experimento foi desenvolvido nos anos agrícolas de 2013/14 e 2014/15 em área experimental da Fazenda de Ensino e Pesquisa pertencente à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, localizada no município de Selvíria – MS. O solo do local é do tipo LATOSSOLO VERMELHO-ESCURO Epi-eutrófico álico, textura argilosa, originalmente sob vegetação de cerrado. A precipitação média anual é de 1.313 mm e a temperatura média anual de 25°C. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, sendo constituído por quatro modos de inoculação com *A. brasilense* (testemunha – sem inoculação de *A. brasilense*, inoculação de *A. brasilense* nas sementes do milho, inoculação de *A. brasilense* na semente do milho e via foliar – estágio V₄ e inoculação de *A. brasilense* via foliar – estágio V₄) com quatro repetições. As análises foram realizadas nos estádios fenológicos V_{3 e 5}, V₁₁, R₂ e R₆. No estágio fenológico V_{3 e 5} as plantas inoculadas com *A. brasilense* na semente apresentaram maior comprimento de raiz principal, maior massa de raiz principal, maior massa de parte aérea de plantas de milho, maior comprimento de parte aérea nas plantas, maior diâmetro de colmo e número de folhas de plantas, maior número de raízes adventícias, maior atividade da redutase do nitrato em folhas de plantas de milho. Inferindo que nessa fase a influência do *A. brasilense* no desenvolvimento da cultura pode ser benéfico e refletir ao longo do ciclo. A inoculação de sementes com *A. brasilense* também obteve médias superiores no comprimento de parte aérea de plantas de milho em estágio V₁₁, maior massa de parte aérea; em V₁₁ inoculação com *A. brasilense* na semente e via foliar (V₄) proporcionou as plantas maior atividade de redutase do nitrato nas folhas. O tratamento testemunha apresentou maior assimilação líquida de gás carbônico, maior condutância estomática e maior transpiração de plantas em plantas de milho. Em R₂ os tratamentos aplicados

ao milho não promoveram diferença significativa estatisticamente ao comprimento e massas de parte aérea de plantas de milho. A aplicação do *Azospirillum brasilense* diminui a taxa fotossintética da planta, porém acumula maior quantidade de CO₂ intercelular, aumenta a atividade da redutase do nitrato, concentrações de pigmentos fotossintéticos, nitrato, amônio, aminoácidos e açúcares nas folhas do milho. Plantas que receberam tratamentos com *Azospirillum brasilense* apresentaram maior concentração de compostos nitrogenados o que refletiu na maior concentração de proteínas de reserva (albumina, globulina e glutelina) nas sementes de milho. Portanto, os resultados sugerem que as melhores épocas de aplicação são na semente e via foliar.

Palavras – chave: Fisiologia. Bactérias promotoras de crescimento de plantas. *Zea mays* L. Segunda safra.

CHAPTER II – INFLUENCE OF INOCULATION MODES WITH *Azospirillum brasilense* ON THE DEVELOPMENT OF MAIZE CULTURE IN DIFFERENT PHENOLOGICAL STAGES.

ABSTRACT

Evaluations that point out the real influence of *Azospirillum* on the plant, is of extreme relevance; knowing how and at what stage of development the plant is benefiting can be an important tool for the correct use of technology and a greater adoption, especially in the production chain, of inoculating plants with growth promoting bacteria. The aim of this study was to evaluate the influence of inoculation with *A. brasilense* (without inoculation - control, seed, seed and V₄ foliar pathway) on the growth and physiological characteristics of the second crop maize during the crop cycle cultivated in conventional tillage. The experiment was developed in the agricultural years of 2013/14 and 2014/15 in an experimental area of the Education and Research Farm belonging to the Faculty of Engineering of Ilha Solteira - UNESP, located in the municipality of Selvíria - MS. The soil of the site is of the type RED-DARK LATOSOL Epi-eutrophic alic, clayey texture, originally under cerrado vegetation. The average precipitation cancels out is 1.313 mm and the average annual temperature is 25 ° C. The experimental design was a randomized complete block, consisting of four modes of inoculation with *A. brasilense* (control - inoculation of *A. brasilense*, inoculation of *A. brasilense* in maize seeds, inoculation of *A. brasilense* in maize seed and via foliar - V₄ stage and inoculation of *A. brasilense* via foliar - V₄ stage) with four replications. The analyzes were carried out at phenological stages V₃ and 5, V₁₁, R₂ and R₆. In the phenological stage V₃ and 5, the plants inoculated with *A. brasilense* in the seed presented higher main root length, larger main root mass, larger shoot mass of maize plants, larger shoot length in plants, larger stem diameter and number of plant leaves, higher number of adventitious roots, higher activity of nitrate reductase in leaves of maize plants. Inferring that in this phase the influence of *A. brasilense* on the development of culture can be beneficial and reflect throughout the cycle. The inoculation of seeds with *A. brasilense* also obtained higher averages in the length of aerial part of maize plants in V₁₁ stage, larger aerial part mass; in V₁₁ inoculation with *A. brasilense* in seed and via foliar (V₄) provided the plants greater activity of nitrate reductase in the leaves. The control treatment showed greater assimilation of carbon dioxide, greater stomatal conductance and greater transpiration in maize plants. In R₂ the treatments applied to maize did not promote a significant difference in length and shoot mass of maize plants. The results obtained indicate that *A. brasilense* decreases the photosynthetic rate of the plant, but

accumulates a greater amount of intercellular CO₂, is an activity of nitrate reductase, combinations of photosynthetic pigments, nitrate, ammonium, amino acids and sugars in corn leaves. Plants that are subject to treatment with higher concentration of reserve proteins (nitrogen, nitrogen and glutelin) in maize seeds. Therefore, the results suggest that the best application times are in seed and foliar via.

Key - words: Physiology. Plant growth promoting bacteria. *Zea mays* L. Second harvest

1 INTRODUÇÃO

A maneira com que o *Azospirillum* spp. influencia a planta, ou seja, o mecanismo exato com que essa associação altera o desenvolvimento, crescimento das plantas (COELHO, 2001) e em que fase fenológica isso ocorre ainda não está bem descrito.

Nos dois anos de condução do experimento em Selviria – MS foram realizadas observações visuais a respeito do desenvolvimento da cultura do milho, onde havia apontamentos do efeito benéfico mostrando que o *Azospirillum brasilense* gerava ao vegetal, porém nem sempre refletia em aumento de produtividade.

Pesquisas realizadas com o *Azospirillum brasilense* à campo em geral produziu resultados inconsistentes, dificultando a utilização dessa tecnologia. As avaliações para tentar uma melhor compreensão dos mecanismos que beneficiem o milho através da inoculação com *Azospirillum brasilense* é necessária. A inoculação com *Azospirillum brasilense* promove interações com a planta que podem alterar as características fisiológicas do vegetal e consequentemente o crescimento e desenvolvimento da cultura do milho segunda safra, assim pretende-se identificar qual característica fisiológica é influenciada pela associação da bactéria com a planta e identificar em qual fase fenológica a associação da bactéria com a planta influencia no crescimento do vegetal e se há alteração em alguma característica fisiológica devido à simbiose.

Sendo assim avaliações que pontuem qual a real influência da bactéria na planta, é de extrema relevância; saber de qual forma e em qual momento do seu desenvolvimento a planta está sendo beneficiada pode ser um importante instrumento para o emprego correto da tecnologia e uma maior adoção, principalmente pela cadeia produtiva, da inoculação de plantas com bactérias promotoras de crescimento.

Com tudo isso, objetivou-se avaliar a influência da inoculação com *Azospirillum brasilense* (sem inoculação – testemunha, semente, semente e via foliar V₄, e via foliar V₄) no crescimento e características fisiológicas do milho segunda safra ao longo do ciclo da cultura cultivado em preparo convencional. Para isso foram realizadas análises nos estádios fenológicos V_{3e5}, V₁₁, R₂ e R₆.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INFLUÊNCIA DO *Azospirillum* NA FISIOLOGIA DAS PLANTAS

O *Azospirillum* é uma bactéria dizotrófica que pode promover o crescimento das plantas, seja pela fixação biológica de nitrogênio (FBN) ou pela produção de substâncias (fitormônios) que auxiliam o crescimento vegetal, essas substâncias seriam capazes de aumentar o desenvolvimento radicular (TIEN et al., 1979) e foliar, sendo considerada uma bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP) (MOREIRA et al., 2010).

A associação dessa bactéria com o vegetal interfere significativamente no funcionamento e processos bioquímicos da planta; e qualquer alteração na fisiologia age diretamente sobre a atividade das enzimas do metabolismo do N e provavelmente com o catabolismo de aminoácidos, proteínas e outros compostos nitrogenados (MACHADO et al., 1998).

Boddey et al. (1986) avaliando o efeito da inoculação de *Azospirillum* spp. no acúmulo de nitrogênio em milho cultivado em campo observaram aumento da atividade da redutase do nitrato em plantas inoculadas com *Azospirillum*, resultados semelhantes foram descritos na literatura (PANWAR, 1992; COELHO, 2001), inferindo também a alteração na rota no nitrogênio por essa bactéria.

As alterações que a interação dessa BPCP promove na planta, seja na produção de fitormônios, FBN, alteração no metabolismo do nitrogênio, podem refletir, além de vários outros fatores, na produção de pigmentos fotossintéticos e no processo de fotossíntese em si.

A inoculação de plantas com *Azospirillum* pode resultar em significantes mudanças em vários parâmetros do crescimento das plantas, as quais podem ou não afetar a produção das culturas (COELHO, 2001).

Vários trabalhos demonstram que o *Azospirillum* contribui com uma série de benefícios para a planta, incluindo a FBN, embora com taxas inferiores às obtidas com leguminosas. A principal contribuição, porém, reside na produção de fitormônios, como as auxinas e giberelinas, que são hormônios de crescimento de plantas, atuando particularmente no desenvolvimento das raízes, assim raízes maiores a planta consegue absorver mais água e nutrientes, tornando-se mais resistente a estresses hídricos, inclusive, apresentando maior resistência a doenças, uma vez que as plantas apresentam melhor balanço de nutrientes e água, portanto, são mais saudáveis (TIEN 1979; HUNGRIA 2010; HUNGRIA 2013, HUNGRIA 2015).

Poucos estudos foram feitos para identificar os mecanismos da interação entre essas bactérias e as enzimas do metabolismo do N em milho. Sem dúvida, esse também é um caminho a ser seguido com grande potencial para se obter genótipos de milho eficientes na absorção e utilização do nitrogênio.

O presente estudo tem o objetivo de avaliar o papel fisiológico dos modos e épocas da aplicação de *A. brasilense* na formação de compostos nitrogenados, fotossíntese e formação de açúcares e suas relações com a produtividade na cultura do milho em cerrado de baixa altitude.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. CARACTERIZAÇÃO DO CLIMA E DO SOLO

O experimento foi desenvolvido no ano agrícola de 2017 em área experimental da Fazenda de Ensino e Pesquisa pertencente à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, localizada no município de Selvíria – MS. O solo do local é do tipo LATOSSOLO VERMELHO-ESCURO Epi-eutrófico álico, textura argilosa (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA, 2006), originalmente sob vegetação de cerrado e vem sendo explorado por culturas anuais há mais de 28 anos.

A precipitação pluvial média anual da região é de 1.313 mm, com temperatura máxima anual de 31 °C, mínima anual de 19 °C e média anual de 25 °C (Portugal, Peres e Rodrigues, 2015), com tipo climático Aw, segundo a classificação de Köppen.

Os dados climáticos durante o período experimental foram coletados em Estação Meteorológica da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira localizada no município de Selvíria - MS.

O solo foi manejado com grade 14 x 32 a profundidade de 20 cm (grade pesada) e com grade 32 x 20 a profundidade de 10 cm (grade niveladora), caracterizando portanto como Sistema de preparo convencional do solo.

Os tratamentos foram constituídos em: testemunha (sem inoculação com *Azospirillum brasilense*), inoculação de *Azospirillum brasilense* nas sementes do milho, inoculação de *Azospirillum brasilense* na semente do milho e via foliar (estádio V4) e inoculação de *Azospirillum brasilense* via foliar (estádio V4).

As coletas para a avaliação das características fisiológicas do milho segunda safra ao longo do ciclo da cultura cultivado em preparo convencional foram realizadas nos estádios fenológicos V_{3 e 5}, V₁₁, R₂ e R₆. A nomenclatura V_{3 e 5} foi utilizada porque nas avaliações realizadas em V₃ foi observado que as plantas nos tratamentos, testemunha e inoculação com *Azospirillum brasilense*, apesar de semeadas simultaneamente, estavam em estádios fenológicos diferentes, V₃ nas plantas de milho sob o tratamento testemunha e V₅ nas plantas de milho sob o tratamento com inoculação com *Azospirillum brasilense* nas sementes.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados, sendo constituído por quatro modos de inoculação com *A. brasilense* (testemunha - sem inoculação de *A. brasilense*, inoculação de *A. brasilense* nas sementes do milho, inoculação de *A. brasilense* na semente do milho e via foliar - estágio V₄ e inoculação de *A. brasilense* via foliar - estágio V₄) com quatro repetições.

O híbrido utilizado foi Dow 2B 810, as sementes de milho já estavam tratadas com 0,0375g de fludioxonil, 0,0150g de metalaxil-M, 0,0080g pirimifós-metílico e 0,0020g de deltametrina para cada 100 kg de semente. A semeadura do milho de segunda safra foi realizada dia 28 de fevereiro de 2017, com regulagem para 3,8 sementes por metro (90.000 sementes por hectare). Foi realizada a inoculação com *Azospirillum brasilense* em parte das sementes (tratamentos com inoculação), com quantidade de 100 ml de inoculante comercial contendo *Azospirillum brasilense* para cada 10 kg de sementes e logo após se realizou a semeadura em solo com boa umidade.

A adubação da cultura foi realizada com 250 kg ha⁻¹ da fórmula 08-28-16, calculada de acordo com as características químicas do solo, levando em consideração as recomendações de Duarte e Cantarella (2004). O manejo fitossanitário e o controle de plantas daninhas foram realizados com produtos específicos para cada caso, quando necessário.

A emergência das plântulas ocorreu dia 05 de março de 2017, aos 5 dias após a semeadura (DAS).

A aplicação de *Azospirillum brasilense* via foliar foi realizada dia 23 de março de 2017 (18 dias após a emergência - DAE) quando o milho encontrava-se na fase V4, com a aplicação de 200 ml ha⁻¹ do inoculante comercial.

A adubação de cobertura foi realizada no dia 26 de março de 2017 (24 DAE), com aplicação de 50 kg de N ha⁻¹, utilizando o fertilizante sulfato de amônio.

O florescimento feminino foi observado no dia 21 de abril de 2017, aos 50 DAE. Durante o desenvolvimento das espigas, houve risco de ataque por pássaros, sendo necessário cobrir com sacos de papel impermeável. A colheita ocorreu dia 7 de julho de 2017, aos 93 DAE.

3.2. ANÁLISES

As análises foram realizadas nos estádios fenológicos V_{3 e 5}, V₁₁ e R₂ e R₆.

3.1.1 Análises biométricas:

Biomassa sistema radicular e parte aérea: Foi determinada através da separação da parte aérea e raízes das plantas retiradas do campo. O sistema radicular foi coletado em uma com um volume de 20 cm de profundidade x 20 cm de comprimento (perpendicular à linhas) x 10 cm de largura (na linha), separado do solo pela lavagem com água corrente com auxílio de peneiras, objetivando que haja a maior eliminação do solo aderido às raízes. A parte aérea foi

lavada para que eliminação de possíveis partes de solo. As partes das plantas foram acondicionadas em sacos de papel, devidamente identificadas e levadas ao laboratório e submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada à temperatura média de 60-70° C até atingir massa em equilíbrio. Posteriormente as amostras foram pesadas e os valores convertidos em g por planta.

Diâmetro do colmo: medida em milímetros com paquímetro a 10 cm do início da parte aérea (divisão entre sistema radicular).

Número de raízes adventícias: contadas o número de raízes adventícias em plantas utilizando as repetições e posteriormente calculado a média e os valores convertidos em raízes adventícias por planta.

Altura da parte aérea: medida em centímetros, do nível do início da parte aérea (divisão entre sistema radicular) até o final do limbo da última folha.

Número de folhas: contadas o número de folhas em plantas utilizando as repetições e posteriormente calculado a média e os valores convertidos em folhas por planta.

3.2.2. Análises fisiológicas:

Para a avaliação de redutase do nitrato, as análises foram realizadas no mesmo dia da coleta, cerca de 30 minutos após a retirada do material do campo (apenas o tempo de transporte das folhas ao laboratório).

Atividade da redutase do nitrato: A atividade da redutase do nitrato foi determinada através da quantificação da produção de NO_2^- pela redução de NO_3^- , segundo a metodologia descrita por Reis et al. (2009). As folhas coletadas foram cortadas retirando-se as pontas e a nervura central, em seguida, pesados 0,5 g do material que depois cortado em pedaços menores de aproximadamente 0,5 cm x 0,5 cm. O material foi transferido para tubos de ensaio onde foram adicionados 5 mL de tampão fosfato de potássio com nitrato de potássio pH 7,5. As amostras foram infiltradas a vácuo 3 vezes durante 2 minutos, e em seguida mantidas em banho-maria a 30 °C com agitação durante uma hora. Em outros tubos de ensaio foram adicionados 0,5 mL de sulfanilamida 1% em HCl 1,5N, 0,5 ml de N-naftil etileno diamino 0,02%, 1,9 mL de água deionizada e 0,1 mL de extrato. Cada tubo foi agitado em vórtex e após 15 minutos, foi determinada a absorbância em espectrofotômetro a 540 nm e os resultados expressos em $\mu\text{mol N-NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$.

Parâmetros de trocas gasosas: As avaliações de trocas gasosas consistem em análises não destrutivas, e foi utilizado um equipamento portátil de trocas gasosas, (Infra Red Gas Analyser –IRGA, marca ADC BioScientific Ltd, modelo LC-Pro). Foram determinadas as

taxas: fotossintética líquida expressa por área ($A - \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração ($E - \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática ($g_s - \text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e a concentração interna de CO_2 na câmara subestomática ($C_i - \mu\text{mol mol}^{-1}$). As condições iniciais impostas para realização das medidas são de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR), providas por lâmpadas LED; 380 ppm de CO_2 e temperatura da câmara em 28°C . As medidas de trocas gasosas foram realizadas no período compreendido entre as 8:00 e 12:00 AM, utilizando a folha diagnose para análise.

Determinação de pigmentos fotossintéticos (clorofilas e feofitinas): A extração da clorofila foi realizada pela extração de 0,5 g de matéria fresca de folhas em 5 mL de acetona 80% utilizando-se 0,5g de matéria fresca de folhas. Foi quantificado a quantidade de clorofila a, clorofila b, clorofila total, feofitina a, feofitina b e feofitina total (Arnon, 1949) pelas equações abaixo:

$$\text{Clorofila A: } Ca = ((12,25 \times \text{ABS663,2}) - (2,79 \times \text{ABS646,8}))$$

$$\text{Clorofila B: } Cb = (21,50 \times \text{ABS646,8}) - (5,10 \times \text{ABS663,2})$$

$$\text{Clorofila total: } Ca+b = (7,15 \times \text{ABS663,2}) + (18,71 \times \text{ABS646,8})$$

$$\text{Carotenoides total: } Cx+c = (1000 \times \text{ABS470}) - (1,82 \times Ca - 85,02 \times Cb)/198$$

$$\text{Feofitina A: } Cph a = (22,42 \times \text{ABS665,4}) - (6,81 \times \text{ABS653,4})$$

$$\text{Feofinita B: } Cph b = (40,17 \times \text{ABS653,4}) - (18,58 \times \text{ABS665,4})$$

$$\text{Feofitina total: } Cph a+b = (3,84 \times \text{ABS665,4}) + (33,36 \times \text{ABS653,4})$$

$$\text{Carotenoides total: } Cx+c = ((1000 \times \text{ABS470}) - (4,28 \times \text{ABS665,4}) - (4,78 \times \text{ABS653,4}))/164$$

3.2.3 Análises nutricionais:

Determinação de nitrato: Foi utilizado o método de Cataldo et al. (1975) para quantificar-se as variações na concentração de nitrato presente nas folhas de milho. Do extrato de tecido devidamente diluído em água, em volume de 0,1 mL é adicionado 0,4 mL ácido salicílico 5% em H_2SO_4 (p/v). Após 20 minutos em temperatura ambiente, foram acrescentados 9,5 mL de NaOH 2N, lentamente. Após resfriar a temperatura ambiente, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro em $\lambda = 410 \text{ nm}$. A concentração de nitrato foi avaliada utilizando-se curva padrão de solução nitrato (de 0 a 4 μmoles).

Determinação de amônia: Para determinação da concentração de amônia solúvel foi utilizado o método de McCullough (1967). O extrato foi previamente diluído em água, em volume de 0,1 mL ao qual foi adicionado 0,5 mL de solução fenol (2,5 g fenol + 12,5 mg nitroprussiato de sódio em volume final de 250 mL) + 0,5 mL de solução fosfato (1,25 g NaOH

+ 13,4 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ + 2,5 mL NaOCl 5% em volume final de 250 mL). O ensaio foi incubado por 1 hora a 37 °C. Em seguida foram efetuadas as leituras em espectrofotômetro em $\lambda = 630$ nm. A concentração de amônia foi avaliada utilizando-se curva padrão de solução sulfato de amônia (de 0 a 0,1 μmoles).

Determinação de macro e micronutrientes: Após a obtenção da matéria seca foliar, as amostras foram moídas, separadamente, e levadas ao Laboratório de Nutrição de Plantas da UNESP/Ilha Solteira, para determinação da concentração dos macros e micronutrientes, segundo a metodologia adaptada de Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

Determinação de sacarose, açúcares totais e aminoácidos livres nas folhas e raízes: O extrato para a determinação de sacarose, açúcares totais, aminoácidos livres totais e proteínas, foi preparado da seguinte forma: inicialmente extraiu-se 1 grama de material vegetal em 10 mL de solução de MCW (60% metanol, 25 % clorofórmio e 15% H_2O). Em seguida, deixou-se na geladeira em tubo Falcon 15 mL vedado por 48 horas. Feito isso, retirou-se 4 mL do sobrenadante, adicionou-se 1 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água deionizada. Os tubos voltaram para a geladeira, vedados, por 24h e, assim, deu-se a separação das fases alcóolica e aquosa. A parte superior, fase aquosa, foi utilizada para as determinações.

Análise de proteínas de reservas nas sementes: Para a quantificação das frações proteicas (albumina, globulina, prolamina e glutelina) as amostras foram devidamente moídas em moinho de bola. Foram pesados em tubos Falcon 0,5 g de farinha para cada amostra. Para extração de albumina foram acrescentados 10 mL de água deionizada e agitadas por aproximadamente 1 minuto. Após agitação os tubos foram levados para uma centrifuga refrigerada a uma temperatura de 4°C a 9.000 rpm durante 20 minutos para separação de fases. O sobrenadante foi retirado para a quantificação da fração albumina. O precipitado foi submetido a extração com 10 mL NaCl a 5% com processos idem ao anterior, e o sobrenadante coletado para a determinação da fração globulina. O precipitado novamente ressuspendido com 5mL de etanol 60%, e o sobrenadante foi retirado para a quantificação da fração prolamina. Por último, foi extraída a fração glutelina, quantificada a partir da extração com 10 mL NaOH 0,4%. A concentração de albumina, globulina, prolamina e glutelina foram determinadas segundo o método de Bradford (1976), utilizando-se o BSA ("bovine serum albumin") como padrão.

3.2.4 Análise estatística:

Os resultados foram submetidos ao teste F da análise de variância. Constatado resultado significativo pelo teste F ($p < 0,01$ e $p < 0,05$), realizada a comparação de médias

pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*. O programa estatístico Sisvar é utilizado nas análises estatísticas (FERREIRA, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 22 estão descritas as médias do comprimento da raiz principal (CRP) e massa de raiz principal (MRP) de plantas de milho segunda safra inoculado com *Azospirillum brasilense*. No estágio fenológico V_{3 e 5} as plantas inoculadas com *A. brasilense* na semente (Tabela 22) apresentaram maior comprimento de raiz principal (18,13 cm) em detrimento das plantas que não foram inoculadas (Testemunha – 16,13 cm) (Figura 3); nas coletas seguintes (estádios fenológicos V₁₁ e R₂) as formas de inoculação com *Azospirillum brasilense* não influenciaram o comprimento da raiz principal das plantas de milho.

A massa de raiz principal das plantas inoculadas com *A. brasilense* na semente em estágio V_{3 e 5} (Tabela 22) foi superior à massa de raiz principal das plantas do tratamento testemunha, com 2,67g e 2,01 g respectivamente. Ainda na Tabela 22, os modos de inoculação não modificaram a massa de raiz das plantas de milho nas coletas em estádios fenológicos V₁₁ e R₂.

Tabela 22- Médias do comprimento da raiz principal (CRP) e massa de raiz principal (MRP) de plantas de milho segunda safra em diferentes fases fenológicas das plantas inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	CRP (cm)			MRP (g)		
	Estádios Fenológicos					
	V _{3 e 5} ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V _{3 e 5} ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	16,13 b	26,25	27,25	2,01 b	29,82	65,27
AF	-(²)	25,88	27,69	-	22,26	52,92
AS	18,13 a	24,94	25,69	2,67 a	29,68	64,60
AS + AF	-	26,44	26,38	-	33,23	58,37
DMS	3,93	-	-	0,65	-	-
Teste de F ⁽¹⁾	1,45*	0,12	2,35	4,38**	2,38	1,23
CV (%)	19,43	21,15	26,75	27,18	29,54	24,63
Média	17,12	25,88	26,75	2,34	28,75	60,29

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 8% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅.

Fonte: Dados da pesquisa da autora.

As médias do número de raízes adventícias em plantas de milho segunda safra inoculado com *Azospirillum brasilense* foram influenciadas apenas em V_{3 e 5} quando a

inoculação com *Azospirillum brasilense* nas sementes aumentaram em 72% o número de raízes adventícias em comparação à testemunha (Tabela 23).

Corroborando com Salamone e Döbereiner (1996), que avaliando o efeito da inoculação com *Azospirillum* em genótipos de milho, observaram que a inoculação modificou a morfologia do sistema radicular das plantas, onde houve o aumento do número de radículas, diâmetro das raízes laterais e adventícias. Resultado que pode ser explicado devido a produção de fitormônios, pela presença do *A. brasilense*, como as auxinas e giberelinas, que são hormônios de crescimento de plantas, atuando particularmente no desenvolvimento das raízes (CASSAN; DIAS-ZORITA, 2016; PALCIOS et al., 2016).

Tabela 23 - Médias do número de raízes adventícias em plantas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos das plantas inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	Estádios Fenológicos		
	V _{3 e 5} ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	1,38 b	8,88	30,38
AF	-(²)	8,50	34,13
AS	3,63 a	10,25	34,88
AS + AF	-	10,75	38,50
DMS	0,74	-	-
Teste de F ⁽¹⁾	25,07	125,92	24,33
CV (%)	51,55*	1,50	1,26
Média	2,50	9,59	34,47

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * – significativo a 1% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾ No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅.

Fonte: da própria autora.

Na Tabela 24, estão descritas as médias da concentração de nitrato (NO₃⁻) (µg/ g MF) em raiz de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos das plantas inoculado com *Azospirillum brasilense*, onde no estágio V₃₋₅ não houve influência dos tratamentos, já na avaliação realizada em V₁₁ as plantas não inoculadas com *Azospirillum brasilense* (testemunha) apresentou maior concentração de nitrato nas raízes (789,25 µg de NO₃⁻/ g MF) quando comparadas as raízes das plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* na semente (431,74 µg de NO₃⁻/ g MF) e inoculadas na semente e via foliar (479,72 µg de NO₃⁻/ g MF). Em R₂ o

maior teor de nitrato na raiz foi observada nas plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* na semente (3.144,88 µg de NO₃⁻/ g MF).

Tabela 24 - Médias da concentração de nitrato (NO₃⁻) (µg/ g MF) em raiz de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos das plantas inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	Estádios Fenológicos		
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	569,87	789,25a	2.678,48 ab
AF	-	590,53ab	1.424,99 c
AS	809,18	431,74 b	3.144,88 a
AS + AF	-	479,72 b	2.081,28 bc
DMS	287,81	222,96	669,97
Teste de F ⁽¹⁾	6,99ns	10,42*	24,14*
CV (%)	18,55	17,56	13,01
Média	689,50	575,06	2.332,41

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * – significativo a 1% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾ No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅.

Fonte: da própria autora.

As médias do conteúdo de aminoácidos (AA) (mg/ g MF) em raiz de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense* estão descritas na Tabela 25. Para o estágio fenológico V₃₋₅ o tratamento com a inoculação de *Azospirillum brasilense* inoculado na semente de milho, apresentou maior conteúdo de AA quando comparado ao tratamento testemunha. Porém, em V₁₁ as plantas não inoculadas (testemunha) apresentaram maior conteúdo de AA (50,88 mg/ g MF), em comparação aos demais tratamentos.

Na Tabela 25 também estão descritas as médias da concentração de amônio (NH₄⁺) (mg/ g MF) em raiz de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense*, em V₃₋₅ a maior concentração de amônio em raiz de milho foi observado no tratamento com o *A. brasilense* inoculado na semente (2,34 mg/ g MF). A inoculação com *A. brasilense* via foliar nas plantas de milho proporcionou maior concentração de amônio nas raízes da planta em comparação aos demais tratamentos no estágio fenológico V₁₁. Já em R₂ as plantas que não foram inoculadas (testemunha) apresentaram maior concentração de amônio nas raízes em detrimento dos outros tratamentos.

Tabela 25 - Médias da concentração de aminoácidos (AA) (mg/ g MF) e concentração de amônio (NH_4^+) (mg/ g MF) em raiz de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	(AA) (mg/ g MF)			(NH ₄) (mg/ g MF)		
	Estádios Fenológicos					
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	23,53 b	50,88 a	41,69 b	1,42 b	2,08 c	3,46 a
AF	-(²)	46,52 b	33,05 c	-(²)	4,16 a	2,95 b
AS	24,88 a	45,74 b	52,55 a	2,34 a	3,27 b	2,52 b
AS + AF	-	46,22 b	43,47 b	-	3,35 b	2,61 b
DMS	1,22	2,75	2,46	0,62	0,38	0,43
Teste de F ⁽¹⁾	12,32**	14,66*	205,38*	21,97**	99,42*	18,82*
CV (%)	2,24	2,63	2,61	14,70	5,34	6,23
Média	24,21	47,34	42,69	1,88	3,22	2,88

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

Na Tabela 26 estão descritas as médias da concentração de açúcares totais (mg/ g MF) em raiz de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Em V₃₋₅ as plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* nas sementes apresentou maior concentração de AT nas raízes (5,0 mg/ g MF), quando comparada as raízes das plantas testemunhas (Figura 30). Em V₁₁ não houve influência dos tratamentos para essa característica avaliada (Figura 31). Em R₂ o conteúdo de AT nas raízes das plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* na semente e via foliar foi superior aos demais tratamentos, com 44,1% maior conteúdo em detrimento à testemunha (Figura 32).

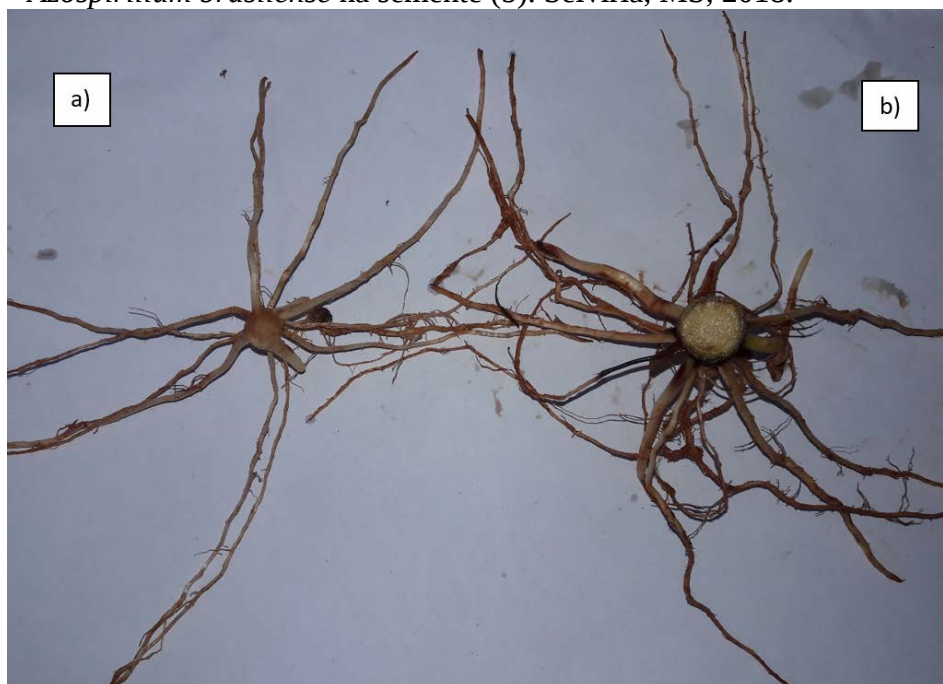
Segundo Taiz e Zaiger (2013), os açúcares exportados para as raízes são utilizados como fonte de energia para o crescimento dessa estrutura, o que corrobora com os dados obtidos na Tabela 22, onde no início do desenvolvimento da raiz (V₃₋₅) houveram maiores comprimento e massa do sistema radicular das plantas inoculadas com *A. brasilense* nas sementes.

Tabela 26- Médias da concentração de açúcares totais (mg/ g MF) e sacarose (mg/ g MF) em raiz de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	Açúcares totais (mg/ g MF)			Sacarose (mg/ g MF)		
	Épocas de coleta					
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	4,1 b	7,8	5,2 c	5,1	6,8ab	5,8 b
AF	-(²)	7,0	4,6 c	-(²)	5,6 b	5,8 b
AS	5,0a	7,2	6,3 b	5,3	5,7 b	6,7a
AS + AF	-	7,5	9,3a	-	7,7a	6,9a
DMS	0,16	-	0,6	-	1,6	0,5
Teste de F ⁽¹⁾	346,03*	2,55	199,83*	0,48ns	7,06*	31,68*
CV (%)	1,50	6,18	4,59	10,11	11,39	3,38
Média	4,6	7,4	6,3	5,2	6,5	6,3

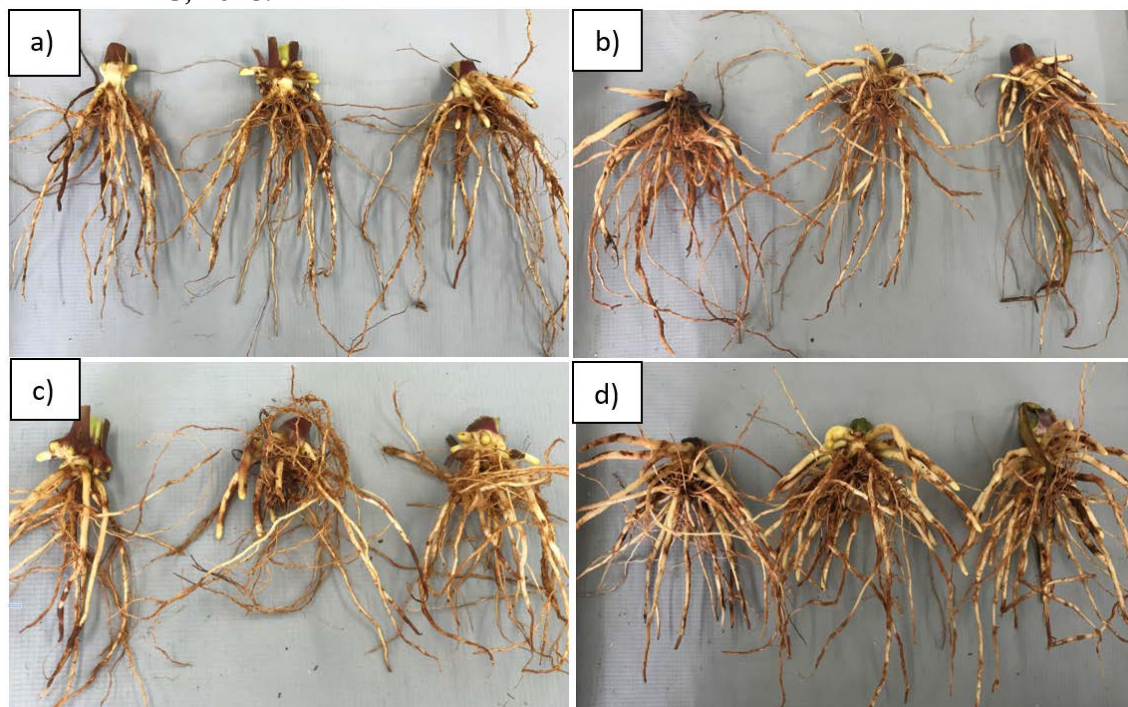
T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

Figura 30 – Aspecto do sistema radicular de plantas de milho em estágio fenológico V₃ e V₅ em plantas sem a inoculação com *Azospirillum brasilense* (a) e com inoculação com *Azospirillum brasilense* na semente (b). Selvíria, MS, 2018.



Fonte: da própria autora.

Figura 31 – Aspecto do sistema radicular de plantas de milho em estágio fenológico V₁₁ em plantas sem a inoculação com *Azospirillum brasilense* (a) e com inoculação com *Azospirillum brasilense* na semente (b) *Azospirillum brasilense* via foliar (estádio V₄) (c) e *Azospirillum brasilense* na semente e via foliar (estádio V₄) (d). Selvíria, MS, 2018.



Fonte: da própria autora.

Figura 32 – Aspecto do sistema radicular de plantas de milho em estágio fenológico R₂ em plantas sem a inoculação com *Azospirillum brasilense* (a) e com inoculação com *Azospirillum brasilense* na semente (b) *Azospirillum brasilense* via foliar (estádio V₄) (c) e *Azospirillum brasilense* na semente e via foliar (estádio V₄) (d). Selvíria, MS, 2018.



Fonte: da própria autora.

Os valores médios do comprimento da parte aérea e massa de parte aérea de plantas de milho estão descritos na Tabela 27, onde no estágio fenológico V_{3 e 5} observa-se maior comprimento de parte aérea nas plantas em que foi realizada a inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* com 78,13 cm quando comparado com as plantas no tratamento testemunha com 70,75 cm (Figura 33). As plantas inoculadas com *A. brasilense* nas sementes também obtiveram médias superiores no comprimento de parte aérea de plantas de milho em estágio V₁₁ (158,4 cm) em comparação aos tratamentos testemunha (147,4 cm) e nas plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* via foliar em V₄ (136,8 cm) (Figura 34). Em R₂ os tratamentos aplicados ao milho não promoveram diferença no comprimento da parte aérea do milho (Figura 35).

A inoculação com *A. brasilense* na semente influenciou de maneira positiva a massa da parte aérea (Tabela 27) com média de 30,67 g contra 22,01 g da massa de parte aérea do tratamento testemunha em estágio fenológico V_{3 e 5} (Figura 33). No estágio V₁₁, na ocasião da coleta, as plantas inoculadas com *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estádio V₄)

apresentaram massa superior em detrimento as plantas inoculadas com *A. brasilense* apenas por via foliar (estádio V₄) com 241,1 g e 165,4 g respectivamente (Figura 34).

Em R₂ as massas de parte aérea de plantas de milho não foram modificadas pelo emprego dos tratamentos sejam eles: testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*), inoculação de *A. brasilense* via foliar (estádio V₄), inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho ou inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estádio V₄) (Tabela 27) (Figura 6).

Tabela 27 - Médias do comprimento da parte aérea (CPA) e massa parte aérea (MPA) de plantas de milho segunda safra em diferentes fases fenológicas das plantas inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	CPA (cm)			MPA (g)		
	Épocas de coleta					
	V _{3 e 5} ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V _{3 e 5} ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	70,75 b	147,4 b	233,6	22,01 b	219,4 ab	366,6
AF	-(²)	136,8 c	237,8	-(²)	165,4 b	377,6
AS	78,13 a	158,4 a	244,0	30,67 a	218,5 ab	378,6
AS + AF	-	155,8 ab	246,3	-	241,1 a	428,4
DMS	4,67	9,63	-	5,84	72,9	84,8
Teste de F ⁽¹⁾	13,85*	16,01*	3,80	12,15*	3,03**	1,64
CV (%)	5,32	4,62	3,79	18,72	24,80	15,69
Média	74,44	149,6	240,4	26,37	211,1	387,8

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estádio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estádio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estádio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estádio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

Na Tabela 28 estão apresentada as médias do diâmetro de colmo e número de folhas de plantas de milho segunda safra inoculado com *Azospirillum brasilense* em diferentes estádios fenológicos das plantas, onde as diferenças só foram observadas em V_{3 e 5} onde a inoculação com *A. brasilense* na semente proporcionou maior diâmetro (11,19 mm) (Figura 30) e maior número de folhas (5,25) (Figura 33) em comparação à testemunha, com 9,66 mm diâmetro (Figura 1) e 3,75 folhas por planta (Figura 33). O maior número de folhas nas plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* na semente colocou a cultura submetida à esse tratamento em estágio fenológico avançado em relação ao tratamento testemunha, visto que foram semeadas no mesmo momento. Corroborando com Costa et al. (2015), que avaliando a eficiência do inoculante com *Azospirillum brasilense* no crescimento e produtividade de milho de segunda safra, onde os tratamentos consistiam de controle sem inoculante, inoculação na

semente e aplicação foliar do inoculante no estágio V₄), observaram que os tratamentos que receberam inoculante apresentaram maior crescimento em altura (9,5 % e 16 %), biomassa seca do colmo (49 % e 6,75 %) e biomassa seca da raiz (123 % e 97 %), respectivamente para inoculante na semente e via foliar. Esse dado pode inferir maior concentração de fitormônios (auxina, giberelina e citocinina) (TIEN et al., 1979) responsáveis pelo crescimento das plantas, acelerando o desenvolvimento e emissão de mais folhas nesse tratamento.

Tabela 28 - Médias do diâmetro de colmo (DC) e número de folhas (NF) de plantas de milho segunda safra em diferentes fases fenológicas das plantas inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	DC (mm)			NF		
	Épocas de coleta					
	V _{3 e 5} ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V _{3 e 5} ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	9,66 b	20,29	18,47	3,75 b	7,88	11,13
AF	-(²)	17,50	17,19	-(²)	8,00	11,25
AS	11,19 a	18,38	16,92	5,25 a	8,63	11,88
AS + AF	-	18,01	17,08	-	7,63	11,50
DMS	1,15	-	-	0,77	-	-
Teste de F ⁽¹⁾	9,85*	2,19	2,34	21,00*	2,45	1,00
CV (%)	9,33	12,54	7,58	14,55	9,57	8,18
Média	10,42	18,55	17,42	4,50	8,03	11,44

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * – significativo a 1% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾ No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅.

Fonte: da própria autora.

Figura 33 – Aspecto de plantas de milho em estágio V₃ e 5, sem a inoculação com *Azospirillum brasilense* (a) e com a inoculação com *Azospirillum brasilense* na semente (b). Selvíria, MS, 2017.



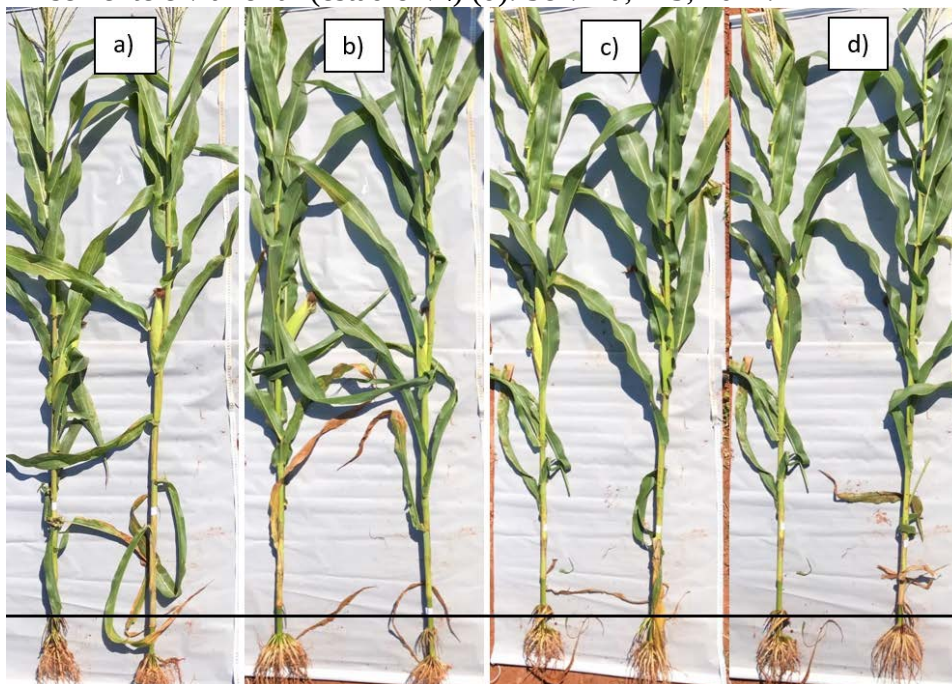
Fonte: da própria autora.

Figura 34 – Aspecto de plantas de milho em estágio V₁₁, sem a inoculação com *Azospirillum brasilense* (a), com a inoculação com *Azospirillum brasilense* na semente (b), *Azospirillum brasilense* via foliar (estádio V₄) (c) e *Azospirillum brasilense* na semente e via foliar (estádio V₄) (d). Selvíria, MS, 2017.



Fonte: da própria autora.

Figura 35 – Aspecto de plantas de milho em estágio R₂, sem a inoculação com *Azospirillum brasilense* (a), com a inoculação com *Azospirillum brasilense* na semente (b), *Azospirillum brasilense* via foliar (estádio V₄) (c) e *Azospirillum brasilense* na semente e via foliar (estádio V₄) (d). Selvíria, MS, 2017.



Fonte: da própria autora.

Na Tabela 29 estão descritos os valores médios da atividade da redutase do nitrato em folhas de plantas de milho, em V₃ e 5 as plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* nas sementes obtiveram maior atividade com 13,57 $\mu\text{mol NO}_2^-/\text{g MF h}^{-1}$ em comparação ao tratamento testemunha (7,32 $\mu\text{mol NO}_2^-/\text{g MF.h}^{-1}$). Em V₁₁ inoculação com *Azospirillum brasilense* na semente e via foliar (V₄) proporcionou as plantas maior atividade de redutase do nitrato nas folhas (12,50 $\mu\text{mol NO}_2^-/\text{g MF.h}^{-1}$) em comparação aos demais tratamentos, testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*), inoculação de *A. brasilense* via foliar (estádio V₄) e inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho. Na coleta em R₂ a atividade da redutase do nitrato não foi influenciada pelos tratamentos nos quais a cultura foi submetida.

Didonet et al. (1996) observaram evidências de que a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* seja responsável pelo aumento da taxa de acúmulo de matéria seca, o que parece estar relacionado com o aumento da atividade das enzimas fotossintéticas e de assimilação de nitrogênio, o que valida os dados obtidos na Tabela 27, onde nos estádios fenológicos V₃ e 5 e V₁₁, as plantas inoculadas apresentaram maior massa de parte aérea quando comparadas à testemunha.

Na Tabela 29 consta a concentração de nitrato (NO_3^-) ($\mu\text{g/g MF}$) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense*, em V₃₋₅ não

houve diferença estatística entre os tratamentos. No estágio V₁₁, a concentração foi superior nas plantas que não foram inoculadas (411,39 µg de NO₃⁻ /g MF) em comparação a inoculação de *Azospirillum brasilense* via foliar (247,15 µg de NO₃⁻ /g MF), inoculação de *A. brasilense* na semente (373,46 µg de NO₃⁻ /g MF) e inoculação de *A. brasilense* na semente e via foliar (359,40 µg de NO₃⁻ /g MF). Em R₂ os tratamentos testemunha, *A. brasilense* na semente e *A. brasilense* na semente e via foliar apresentaram maior teor de nitrato em relação ao tratamento com *A. brasilense* via foliar, corroborando com Marriel et al. (1998) que obtiveram resultados positivos, onde além da fixação biológica de nitrogênio, houve o aumento da assimilação do nitrato (pelo aumento da atividade da redutase do nitrato) contribuindo para a incorporação de nitrogênio nas plantas inoculadas.

Tabela 29 - Médias da atividade da redutase do nitrato (RN) (µmol NO₂⁻ /g MF h⁻¹) e teor de nitrato (NO₃⁻) (µg/g MF) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	RN (µmol NO ₂ ⁻ /g MF h ⁻¹)			NO ₃ ⁻ (µg/g MF)		
	Estádios fenológicos					
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	7,32 b	7,05 bc	19,25	482,32	411,39 a	685,24 a
AF	-(²)	8,83 b	15,40	-(²)	247,15 b	311,40 b
AS	13,57a	5,34 c	18,88	658,04	373,46 b	743,76 a
AS + AF	-	12,50 a	15,40	-	359,40 b	552,33 a
DMS	1,73	2,59	-	-	7,44	201,65
Teste de F ⁽¹⁾	131,78*	27,35*	0,92ns	1,05ns	17,10*	17,68*
CV (%)	7,37	13,90	20,67	42,53	9,82	15,93
Média	10,45	8,43	17,70	570,18	347,85	573,18

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾ No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

As plantas inoculadas com *A. brasilense* na semente apresentaram maior concentração de clorofila A, 42,55 µg/ml, em relação à testemunha, 23,27 µg/ml (Tabela 30). Nos estádios fenológicos V₁₁ e R₂ não houve influência dos tratamentos no conteúdo de CA em folhas de milho.

A Tabela 9 apresenta a concentração de clorofila B (CB) (µg/ml) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*, onde em V₃₋₅ as plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* nas sementes apresentou maior conteúdo de CB, 32,20% superior às plantas não inoculadas. No estágio fenológico V₁₁ não

houve diferença significativa entre os tratamentos realizados. Já no estágio R₂ o conteúdo de CB nas folhas das plantas de inoculadas com *Azospirillum brasilense* nas sementes e via foliar (V₄) apresentou maior média em relação às folhas das plantas de inoculadas com *Azospirillum brasilense* via foliar (V₄)

Tabela 30- Médias da concentração de clorofila A (CA) (µg/ml) e concentração de clorofila B (CB) (µg/ml) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	(CA) (µg/ml)			(CB) (µg/ml)		
	Estádios fenológicos					
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	23,27 b	97,73	301,88	13,81 b	99,19	144,66 ab
AF	-(²)	85,09	309,39	-(²)	82,46	118,50 b
AS	42,55 a	84,27	317,40	20,37a	81,10	147,84 ab
AS + AF	-	73,91	237,88	-	88,42	182,69 a
DMS	7,69	-	-	4,97	-	55,62
Teste de F ⁽¹⁾	63,73*	1,04ns	2,23ns	17,62*	2,26ns	4,38**
CV (%)	10,38	22,38	16,73	12,92	12,48	16,97
Média	32,91	85,24	291,64	17,09	87,79	148,42

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

As médias da concentração de clorofila total (CT) (µg/ml) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense* constam na Tabela 31, onde os resultados mostram que as folhas das plantas de milho inoculado na semente com *A. brasilense* apresentaram maior conteúdo de CT no estágio fenológico V₃₋₅, 62,32 µg/ml, em relação às folhas das plantas não inoculadas. Em R₂ não houve influência dos tratamentos para essa característica avaliada. Os pigmentos fotossintetizantes são responsáveis pela absorção da luz que impulsiona a fotossíntese (TAIZ; ZAIGER, 2013), portanto sendo fundamental para a glicólise e consequentemente podendo refletir no crescimento e produtividade da cultura.

Para a concentração de carotenóides (CD) (µg/ml) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense* (Tabela 31) em V₃₋₅ e R₂ não houve diferença significativa entre os tratamentos realizados. Já para R₂ o menor valor de CD em folhas de milho foi observado em folhas de plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* via

foliar. Os carotenoides (pigmentos acessórios) no processo da fotossíntese são os primeiros a absorver a luz e dissipar o excesso de luz. Posteriormente, transfere a energia para a clorofila, assim também ajudam a proteger o organismo de danos causados pela luz (fotoproteção) (TAIZ; ZAIGER, 2013). Portanto um organismo com maior conteúdo de carotenoides está mais protegidos de danos fotoquímicos.

Tabela 31- Médias da concentração de clorofila total (CT) ($\mu\text{g/ml}$) e concentração carotenóides (CD) ($\mu\text{g/ml}$) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	(CT) (µg/ml)			(CD) (µg/ml)		
	Estádios fenológicos					
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	37,57 b	196,92	446,53	19,34	78,65	195,90 a
AF	-(²)	167,55	427,89	-(²)	70,04	150,07 b
AS	62,32 a	165,38	465,24	24,36	69,16	185,91 ab
AS + AF	-	162,33	420,57	-	67,94	171,11 ab
DMS	2,60	-	-	-	-	41,49
Teste de F ⁽¹⁾	918,39*	4,04ns	2,18ns	8,95ns	1,09ns	4,50**
CV (%)	2,31	9,24	6,16	10,87	13,07	10,69
Média	49,95	173,04	440,06	21,85	71,45	175,75

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

Em V₃₋₅ as folhas das plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* na semente apresnetou maior concentração de FT (39,49 $\mu\text{g/ml}$) quando comparado as folhas das plantas não inoculadas (testemunha) (24,08 $\mu\text{g/ml}$) (Tabela 32). Em V₁₁ as maiores concnetrações de FT foi observado nas folhas das plantas não inoculadas. Para R₂, os tratamentos não influenciaram o conteúdo de feoftina total.

Tabela 32 - Médias da concentração de feofitina total (FT) ($\mu\text{g/ml}$) em folhas de milho segunda safra em diferentes fases fenológicas das plantas inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	Estádios fenológicos		
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	24,08 b	123,82 a	288,90
AF	-(²)	101,43 b	288,83
AS	39,49 a	102,29 b	310,90
AS + AF	-	101,51 b	246,92
DMS	6,23	18,78	-
Teste de F ⁽¹⁾	61,99*	6,75ns	2,28ns
CV (%)	8,71	7,93	12,49
Média	31,78	107,26	283,89

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * – significativo a 1% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾ No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅.

Fonte: da própria autora.

Na Tabela 33 estão descritas as médias da concentração de açúcares totais (mg/ g MF) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense*, em V₃₋₅ não houve diferença entre os dados obtidos. Na avaliação realizada em V₁₁ as folhas das plantas que não foram inoculadas e as que foram inoculadas nas sementes, apresentaram maior conteúdo de AT. Em R₂ o maior conteúdo foi observado nas folhas das plantas que não foram inoculadas com *A. brasilense* (testemunha).

A concentração de sacarose (mg/ g MF) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense* também está descrito na Tabela 33, onde em V₃₋₅ não houve influência dos tratamentos; em V₁₁ e R₂ as folhas das plantas não inoculadas apresentaram maior conteúdo de SA, em relação aos demais tratamentos.

Tabela 33- Concentração de açúcares totais (mg/ g MF) e conteúdo de (mg/ g MF) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	Açúcares totais (mg/ g MF)			Sacarose (mg/ g MF)		
	Épocas de coleta					
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	4,53	10,6 a	24,3 a	7,5	10,8 a	22,0 a
AF	-(²)	5,6 b	16,3 b	-(²)	7,2 c	15,5 b
AS	5,4	9,7 a	16,9 b	7,0	9,2 b	16,2 b
AS + AF	-	5,4 b	15,9 b	-	6,9 c	17,0 b
DMS	-	0,9	2,3	-	0,9	2,0
Teste de F ⁽¹⁾	6,80 ^{ns}	175,31*	56,68*	1,05 ^{ns}	64,85*	42,33*
CV (%)	9,40	5,21	5,75	8,10	5,27	5,15
Média	4,9	7,8	18,4	7,3	8,6	17,7

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

Na Tabela 34 estão descritas as médias da concentração de aminoácidos (mg/ g MF) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense* em V₃₋₅ as folhas das plantas não inoculadas foram superiores às folhas das plantas inoculadas na semente. Em V₁₁ a maior concentração foi observado nas folhas das plantas inoculadas com *A. brasilense* na semente e via foliar, em relação aos demais tratamentos. Já em R₂ as maiores concentrações de aminoácidos foram obtidos nas plantas testemunha 62,89 mg/ g MF, em detrimento aos outros tratamentos.

A concentração de amônio (NH₄⁺) (mg/ g MF) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense* está descrito na Tabela 34, em V₃₋₅ o maior teor foi observado nas folhas das plantas inoculadas com *A. brasilense* nas sementes. Para a avaliação realizada em V₁₁ os tratamentos, testemunha e inoculação com *A. brasilense* nas sementes apresentaram maiores concentrações de amônio, 2,54 e 2,70 mg de NH₄⁺ / g MF, respectivamente. Já em R₂ apenas na testemunha foi constatado a maior concentração de amônio nas folhas de milho, cerca de 48% superior aos demais tratamentos.

Tabela 34 - Concentração de aminoácidos (mg/ g MF) e teor de amônio (NH₄⁺) (mg/ g MF) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	Aminoácidos (mg/ g MF)			NH ₄ ⁻ (mg/ g MF)		
	Estádios fenológicos					
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	36,07a	30,84 c	62,89 a	2,18 b	2,54 a	2,46 a
AF	-(²)	44,54 b	51,95 bc	-(²)	1,17 b	1,13 b
AS	31,94 b	24,84 d	55,92 b	2,98 a	2,70 a	1,28 b
AS + AF	-	54,69 a	48,48 c	-	1,14 b	1,15 b
DMS	2,68	2,38	6,43	0,37	0,43	0,26
Teste de F ⁽¹⁾	23,99**	522,50*	18,03*	47,56*	76,84	117,28*
CV (%)	3,51	2,84	5,32	6,34	10,23	7,89
Média	34,00	37,98	54,81	2,58	1,89	1,50

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

Os teores de nitrogênio (N) (g/ kg) em folhas de milho segunda safra estão descritos na Tabela 35, no estágio fenológico V₃₋₅ o maior teor de N foi observado nas folhas das plantas inoculadas com *A. brasilense* nas sementes. Em V₁₁ não houve diferença entre os tratamentos, com média geral de 28,72 g de N/ kg de matéria seca das folhas. Na avaliação realizada em R₂ o maior teor de N foi observado nas folhas das plantas inoculadas com *A. brasilense* nas sementes e via foliar. Corroborando com Figueiredo (2009) e Araújo (2013) que constaram que bactérias do gênero *Azospirillum* pode contribuir com a nutrição nitrogenada da planta.

Na Tabela 35 consta os teores de fósforo (P) (g/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense*, em V₃₋₅ não houve diferença entre os tratamentos. Em V₁₁ o maior teor de P foi observado nas folhas das plantas testemunha. Na avaliação realizada em R₂ os maiores teores de P foram observados nos tratamentos testemunha (65,67 g/ kg), *A. brasilense* via foliar (68,00 g/ kg) e *A. brasilense* na semente (67,17 g/ kg).

Tabela 35 - Teores de nitrogênio (N) (g/ kg) e fósforo (P) (g/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	N (g/ kg)			P (g/ kg)		
	Estádio fenológico					
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	34,18 b	28,63	3,25 b	3,54	3,22 a	65,67 a
AF	-(²)	28,54	3,12 c	-(²)	2,71 c	68,00 a
AS	38,15 a	28,91	3,23 b	3,50	2,97 b	67,17 a
AS + AF	-	28,82	3,93 a	-	2,68 c	55,00 b
DMS	0,96	-	0,85	-	0,20	2,78
Teste de F ⁽¹⁾	317,58*	0,67ns	447,49*	1,00ns	39,06*	113,75*
CV (%)	0,75	1,26	0,89	1,39	2,42	1,54
Média	36,17	28,72	3,38	3,52	2,89	63,96

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾ No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

Nos estádios fenológicos V₃₋₅ e V₁₁ não houveram diferença entre os tratamentos (Tabela 36). Em R₂ o maior teor de K foi observado nas folhas das plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* nas sementes e via foliar, 7,53 g de K/ kg de massa seca de folhas.

Os teores de cálcio (Ca) (g/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense* estão descritos na Tabela 36, em V₃₋₅ o teor de Ca foi superior nas folhas das plantas inoculadas com *A. brasilense* nas sementes. Em V₁₁ os tratamentos não influenciaram os teores de Ca. Na avaliação realizada em R₂ as folhas das plantas testemunha apresentaram maior teor de Ca em detrimento dos tratamentos com *A. brasilense* via foliar e *A. brasilense* na semente e via foliar.

Tabela 36- Teores de potássio (K) (g/ kg) e cálcio (Ca) (g/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	K (g/ kg)			Ca (g/ kg)		
	Estádios fenológicos					
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	27,92	23,62	5,72 b	3,10 b	3,29	1,35 a
AF	-(²)	19,18	5,48 b	- (²)	2,75	0,89 b
AS	28,45	17,07	5,34 b	4,16 a	2,65	0,99 ab
AS + AF	-	16,81	7,53 a	-	3,31	0,69 b
DMS	-	-	1,70	0,78	-	0,41
Teste de F ⁽¹⁾	0,07ns	4,23ns	8,61**	34,11**	3,25ns	10,81*
CV (%)	8,72	13,84	9,99	6,12	11,08	14,97
Média	28,19	19,17	6,02	3,63	3,00	0,98

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

Na Tabela 37 consta os teores de magnésio (Mg) (g/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense*, onde no estágio fenológico V₃₋₅ as folhas das plantas inoculadas com *A. brasilense* nas sementes apresentaram maior teor de Mg. Em V₁₁ não houve diferença entre os tratamentos. Já em R₂ o tratamento testemunha proporcionou maior teor de Mg nas folhas em relação aos demais tratamentos.

O teor de enxofre (S) (g/ kg) em folhas de milho segunda safra no estágio fenológico V₃₋₅ não foi influenciado pelos tratamentos (Tabela 37). Em V₁₁ as folhas inoculadas com *A. brasilense* na semente e via foliar apresentaram teor de S superior aos tratamentos com *A. brasilense* via foliar e *Azospirillum brasilense* na semente. No estágio fenológico R₂ o maior teor de S foi observado nas folhas das plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* via foliar.

Tabela 37- Teores de magnésio (Mg) (g/ kg) e enxofre (S) (g/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	Mg (g/ kg)			S (g/ kg)		
	Estádios fenológicos					
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	2,57 b	2,90	0,91 a	2,54	1,98 ab	56,50 b
AF	-(²)	2,64	0,56 b	-(²)	1,74 b	59,67 a
AS	3,33 a	2,45	0,58 b	2,39	1,72 b	55,50 b
AS + AF	-	2,69	0,53 b	-	2,13 a	56,00 b
DMS	0,19	-	0,35	-	0,34	2,82
Teste de F ⁽¹⁾	302,29*	1,43	6,36**	0,69ns	8,30**	10,58*
CV (%)	1,83	9,96	18,97	8,97	6,30	1,76
Média	2,95	2,67	0,65	2,47	1,89	56,92

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

O teor de B das folhas das plantas testemunha em V₃₋₅ foi superior ao teor das folhas das plantas inoculadas com *A. brasilense* na semente (Tabela 38). Já no estágio fenológico V₁₁ o maior teor de B foi observado nas folhas das plantas inoculadas com *A. brasilense* na semente e via foliar, superior cerca de 60% ao tratamento testemunha. Em R₂ não houve diferença entre os tratamentos.

Os teores de Cu em folhas de milho segunda safra estão descritos na Tabela 38, onde nos estádios fenológicos V₃₋₅ e R₂ não houveram diferenças estatísticas. Em V₁₁ os maiores teores de Cu nas folhas foram observados nas plantas dos tratamentos testemunha, *A. brasilense* na semente e *A. brasilense* na semente e via foliar.

Tabela 38- Teores de boro (B) (mg/ kg) e cobre (Cu) (mg/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	B (mg/ kg)			Cu (mg/ kg)		
	Estádios fenológicos					
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	46,41 a	6,84 d	87,88	42,67	126,67 a	3,41
AF	-(²)	11,89 b	91,83	-(²)	51,33 b	3,22
AS	40,54 b	10,18 c	90,17	67,00	147,67 a	4,93
AS + AF	-	17,37 a	92,00	-	151,67 a	3,76
DMS	0,14	0,97	-	-	69,15	-
Teste de F ⁽¹⁾	3094*	493,03*	2,03ns	0,23ns	10,90*	2,78
CV (%)	0,09	2,97	2,60	112,54	20,51	20,79
Média	43,48	11,57	90,46	54,83	119,33	3,83

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

Na Tabela 39 consta os teores de ferro (Fe) (mg/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense*, em V₃₋₅ os tratamentos não influenciaram essa característica. Em V₁₁ o tratamento testemunha apresentou o maior teor de Fe em comparação ao tratamento com *A. brasilense* na semente e o tratamento com *A. brasilense* na semente e via foliar. Já no estágio fenológico R₂ o maior teor de Fe foi o das folhas das plantas não inoculadas, em relação aos demais tratamentos.

Os teores de Mn em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *A. brasilense* estão descritos na Tabela 39, onde nos estádios fenológicos V₃₋₅ e R₂ não houveram diferença entre os tratamentos. Já em R₂ o maior teor de Mn foi nas folhas das plantas inoculadas com *A. brasilense* na semente e via foliar.

De maneira geral a absorção de macro e micronutrientes no início do desenvolvimento do milho foi favorecido pela inoculação com *A. brasilense* nas sementes, fato que é coerente com os dados de massa seca da raiz nesse mesmo estágio fenológico, onde a maior quantidade de raízes (que teve seu crescimento melhorado devido aos benefícios inerentes a associação do *A. brasilense* com a planta) foi benéfico à absorção de macro e micronutrientes devido à maior superfície de contato.

Tabela 39 - Teores de ferro (Fe) (mg/ kg) e manganês (Mn) (mg/ kg) em folhas de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	Fe (mg/ kg)			Mn (mg/ kg)		
	Épocas de coleta					
	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂	V ₃₋₅ ⁽³⁾	V ₁₁	R ₂
T	1.029,33	283,83 a	2,62 a	181,67	54,00	0,32 b
AF	-(²)	265,67 ab	2,28 b	-(²)	56,33	0,38 b
AS	1.043,00	226,00 bc	2,29 b	182,67	56,33	0,30 b
AS + AF	-	211,67 c	1,55 c	-	49,67	0,53 a
DMS	-	39,89	0,20	-	5,97	0,11
Teste de F ⁽¹⁾	0,11ns	16,85*	126,44*	0,04ns	6,63**	22,91*
CV (%)	4,99	5,72	3,17	3,45	3,91	9,95
Média	1.036,16	246,67	2,19	182,17	54,10	0,38

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * e ** – significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅. Fonte: da própria autora.

A assimilação de gás carbônico em plantas de milho (Tabela 40) na testemunha foi superior (84,26 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em mais de 26% quando comparada aos demais tratamentos, porém a concentração intercelular de gás carbônico (Tabela 40) apresentou maiores médias onde as plantas inoculadas com o *A. brasilense* na semente armazenaram maior concentração, 143,00 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}^{-1}$, quando comparado ao tratamento com o *Azospirillum brasilense* na semente e via foliar (V₄), 114,67 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}^{-1}$, e com a testemunha, 28,83 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}^{-1}$.

Tabela 40 - Valores médios de assimilação de CO₂ (A) e concentração intercelular de CO₂ (Ci) em plantas de milho segunda safra em fase fenológica V₁₁ inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	Ci ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}^{-1}$)
T	84,26 a	28,83 c
AF	53,76 c	128,17 ab
AS	54,29 c	143,00 a
AS + AF	61,89 b	114,67 b
DMS	3,75	23,75
Teste de F ⁽¹⁾	241,31*	77,28*
CV (%)	3,55	13,77
Média	63,55	103,67

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * – significativo a 1% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾ No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅.

Fonte: da própria autora.

A condutância estomática e transpiração de plantas em estágio fenológico V₁₁ estão apresentadas na Tabela 41, onde se observa que o tratamento testemunha apresentou valores superiores para as duas características avaliadas em relação aos demais tratamentos.

Tabela 41 - Valores médios de condutância estomática (Gs) e transpiração (E) em plantas de milho segunda safra no estágio fenológico V₁₁ inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	Gs (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	E (mmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)
T	5,52 a	4,45 a
AF	4,60 b	0,92 b
AS	4,52 b	1,14 b
AS + AF	4,49 b	1,11 b
DMS	0,54	0,36
Teste de F ⁽¹⁾	26,94*	378,72*
CV (%)	4,88	11,24
Média	4,78	1,90

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. * – significativo a 1% de probabilidade. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾ No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅.

Fonte: da própria autora.

Os conteúdos de albumina nos grãos não foram influenciados pelos tratamentos aplicados às plantas (Tabela 42). As proteínas globulina, prolamina e glutelina (Tabela 42) apresentaram conteúdos superiores nos grãos das plantas inoculadas com *A. brasilense* na semente e via foliar.

De acordo com Taiz e Zeiger 2013, além de fornecer o carbono para crescimento e biossíntese de polissacarídeos, a sacarose atua como sinal na regulação de genes que codificam enzimas, transportadores e proteínas de reserva. Assim, a sacarose também tem um importante papel regulador em muitos processos de desenvolvimento, assim, o conteúdo de sacarose nas raízes (Tabela 26) e de aminoácidos nas raízes (Tabela 34) podem ter interferido no conteúdo das proteínas de reserva.

Esse aumento das proteínas de reserva podem ser uma alternativa para a o enriquecimento dos grãos de milho, já que há uma crescente tendência de mercado na fabricação e formulação de alimentos industrializados tem incentivado novas buscas de fontes protéicas, a fim de aumentar o valor nutritivo e as propriedades organolépticas dos alimentos (MOLINA, 2010).

Tabela 42- Conteúdo de albumina (AL) (mg/ g MS), globulina (GB) (mg/ g MS), prolamina (PR) (mg/ g MS) e glutelina (GL) (mg/ g MS) em grãos de milho segunda safra em diferentes estádios fenológicos inoculado com *Azospirillum brasilense*. Selvíria, MS, 2018.

Inoculação	AL	GB	PR	GL
(mg/ g MS)				
T	105,38	42,80 b	2,99 c	103,25 b
AF	105,58	50,44 ab	5,26 ab	113,98 ab
AS	97,37	53,58 ab	4,44 bc	110,44 ab
AS + AF	101,17	56,32 a	6,98 a	120,28 a
DMS	-	12,96	2,10	15,93
Teste de F ⁽¹⁾	0,65ns	3,96**	12,36*	3,59***
CV (%)	9,48	11,55	19,28	6,70
Média	102,37	50,79	4,92	15,93

T – testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*); AF – inoculação de *A. brasilense* via foliar (estágio V₄); AS – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho; AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄). ⁽¹⁾Teste F: ns - não significativo pelo Teste de F. *, ** e *** – significativo a 1%, 5% e 6% de probabilidade, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey. DMS – diferença mínima significativa pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação experimental. ⁽²⁾ Não há dados pois na data da coleta os tratamentos de inoculação com *A. brasilense* via foliar (estágio V₄) e AS+AF – inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar (estágio V₄) não haviam sido aplicados. ⁽³⁾ No momento da avaliação o tratamento T estava em estágio V₃ e o tratamento AS estava em V₅.

Fonte: da própria autora.

5 CONCLUSÕES

No estágio fenológico V₃ e 5 as plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* na semente apresentaram maior comprimento de raiz principal, maior massa de raiz principal, maior massa de parte aérea de plantas de milho, maior comprimento de parte aérea nas plantas, maior diâmetro de colmo e número de folhas de plantas, maior número de raízes adventícias, maior atividade da redutase do nitrato em folhas de plantas de milho. Inferindo que nessa fase a influência do *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento da cultura pode ser benéfico e refletir ao longo do ciclo.

A inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* também obteve médias superiores no comprimento de parte aérea de plantas de milho em estágio V₁₁, maior massa de parte aérea; em V₁₁ inoculação com *Azospirillum brasilense* na semente e via foliar (V₄) proporcionou as plantas maior atividade de redutase do nitrato nas folhas.

A aplicação do *Azospirillum brasilense* diminui a taxa fotossintética da planta, porém acumula maior quantidade de CO₂ intercelular, aumenta a atividade da redutase do nitrato, concentrações de pigmentos fotossintéticos, nitrato, amônio, aminoácidos e açúcares nas folhas do milho. Plantas que receberam tratamentos com *Azospirillum brasilense* apresentaram maior concentração de compostos nitrogenados o que refletiu na maior concentração de proteínas de reserva (albumina, globulina e glutelina) nas sementes de milho.

REFERÊNCIAS

- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Maryland, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.
- BODDEY, R. M.; BALDANI, V. D.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Effect of inoculation of *Azospirillum* spp. on nitrogen accumulation by field-grown wheat. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 95, n.2, p. 109-121. 1986.
- CASSAN, F. DIAZ-ZORITA, M. *Azospirillum* sp in current agriculture: from the laboratory to the field. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 103, n. 1, p. 117-130, 2016.
- CATALDO, D. A.; MAROON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid 1. **Communications in Soil Science & Plant Analysis**, Philadelphia, v. 6, n. 1, p. 71-80, 1975.
- COELHO, M. A. O. **Atividade da nitrato redutase, composição mineral e caracteres da planta de trigo associados à aplicação de molibdênio, à peletização e à inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense***. 2001. 147 f. Tese (Doutorado) – Faculdade Universidade federal de Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.
- COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. S. F.; NAVES, D. C. F.; SANTOS, C. B.; ROCHA, A. F. S. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of second-harvest maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 304-311, 2015.
- DIDONET, A. D.; RODRIGUES, O.; KENNER, M. H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasiliense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 9, p. 645-651, 1996.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M. S.; PEDROSA, F. 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, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Documentos, 325). , ISSN 1516-781X. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/download/doc325.pdf>. Acessado em: 20 Jul 2013.
- MACHADO, A. T.; SODEK, L.; DÖBEREINER, J; REIS, V. M. Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com bactérias diazotróficas no comportamento bioquímico da cultivar de milho nitroflint. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 33, n. 1, p.961-970, 1998.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFÓS, 1997. 317 p.
- MARRIEL, I. E.; CARDOSO, E. J. B. N. Aumento da atividade da redutase do nitrato e do acúmulo de nitrogênio em diferentes genótipos de milho inoculados com bactérias diazotróficas. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 22., 1998, Recife. **Anais...** Recife: ABMS, 1998. Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/39268/1/Aumento-atividade.pdf>. Acesso: 20 abr 2017.

MCCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. **Clínica química acta**, Hartford, v. 17, n. 2, p. 297-304, 1967.

MOLINA, J. P. **Fracionamento da proteína e estudo termoanalítico das leguminosas: grão de bico (*Cicer arietinum*), variedade Cícero e tremoço branco (*Lupinus albus* L.)**. 2010. 57 f. Dissertação (Mestrado)– Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista - “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, - Araraquara, 2010.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**. Bom Jesus, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

PANWAR, J. D. S. Effect of VAM and *Azospirillum brasilense* on metabolic changes and grain yield of wheat under moisture stress condition. **Indian Journal and plant Physiology**, Pune, v. 35, n. 2, p.157-161, 1992.

SALAMONE, I. E. G.; DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 21, n. 2, p. 193-196. 1996.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 37, n. 1, p.1016-1024, 1979.

VOGELS, G.D.; VAN DER DRIFT, C. Differential analyses of glyoxylate derivatives. **Analytical biochemistry**, San Diego, v. 33, n. 1, p. 143-157. 1970.