

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INTERAÇÃO DE VARIEDADES DE MILHO SOB
INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* EM
DIFERENTES ÉPOCAS DE SEMEADURA**

Carlos Henrique Caprio
Engenheiro Agrônomo

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INTERAÇÃO DE VARIEDADES DE MILHO SOB
INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* EM
DIFERENTES ÉPOCAS DE SEMEADURA**

Carlos Henrique Caprio

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Vitti Môro

**Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Genética e Melhoramento de Plantas).**

2017

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Antonio Caprio e Maria Miltes da Silva.

Aos meus irmãos Fernanda Cristina Caprio, Alexandre Paulo Caprio e Rafael Augusto Caprio.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meu caminho, sempre indicando a melhor direção a ser seguida.

Aos meus pais, Antonio Caprio e Maria Miltes da Silva, por todo apoio, compreensão, ensinamentos e carinho dedicados a mim durante todos os anos de minha vida.

Aos meus irmãos, Fernanda, Alexandre e Rafael, meus melhores amigos e incentivadores, sem os quais este trabalho não seria possível.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gustavo Vitti Môro, por toda a atenção, ensinamentos e competência.

À Universidade Estadual Paulista, UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal, e ao Departamento de Produção Vegetal, em especial ao Setor de Melhoramento, pelas oportunidades e experiências proporcionadas.

Aos funcionários do Departamento, pelo auxílio na execução dos experimentos e dos processos administrativos.

Aos professores do programa de pós-graduação em Agronomia, Genética e Melhoramento de Plantas, por toda instrução e conhecimento transmitidos.

Aos membros da banca examinadora, pela disponibilidade e pelas valiosas contribuições para este trabalho.

Aos amigos do Departamento de Produção Vegetal e demais colegas da pós-graduação pelo companheirismo durante esses anos em Jaboticabal.

Aos membros do Núcleo de Estudos em Genética e Melhoramento de Milho (NEGEMM), Camila, Lucas, Sophia, Marcela, Rodolfo, Gustavo, Carlos G., Flavia, Kian, Kauê, Luiz, Élcio e Eduardo, pela amizade e crescimento profissional.

Aos meus grandes amigos e companheiros de república, Steffan, Kian, Felipe, Murilo, Bruno e Donovan, por toda a cumplicidade, amizade e aprendizado, os quais proporcionaram ótimos momentos de convivência durante o período de mestrado.

À Camila Soares Figueiredo, uma grande amiga, parceira de caminhada e conselheira durante todo o período de desenvolvimento deste projeto.

À Carla Najar, companheira de todas as horas e incentivadora de todos os momentos, por toda a atenção, carinho e afeto dedicados a mim durante a confecção deste trabalho.

A todos que de alguma maneira contribuíram para que essa fase da vida fosse concluída de maneira serena e saudável.

MUITO OBRIGADO!

C253i Caprio, Carlos Henrique
Interação de variedades de milho sob inoculação com *Azospirillum
brasiliense* em diferentes épocas de semeadura. / Carlos Henrique
Caprio. – – Jaboticabal, 2017
iii, 45 p. : ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientadora: Gustavo Vitti Môro
Banca examinadora: Rinaldo Cesar de Paula, Ivana Marino
Bárbaro Torneli
Bibliografia

1. *Zea mays* L. 2. Bactéria Diazotrófica. 3. Caracteres agronômicos.
4. Nitrogênio. 5. Safras I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.52:633.15

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

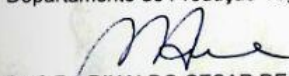
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: INTERAÇÃO DE VARIEDADES DE MILHO SOB INOCULAÇÃO COM
Azospirillum brasilense EM DIFERENTES ÉPOCAS DE SEMEADURA

AUTOR: CARLOS HENRIQUE CAPRIO
ORIENTADOR: GUSTAVO VITTI MÔRO

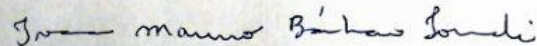
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA
(GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. GUSTAVO VITTI MÔRO
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. RINALDO CESAR DE PAULA
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pesquisadora Dra. IVANA MARINO BÁRBARO TORNELI
APTA / Secretaria da Agricultura e Abastecimento - Colina, SP

Jaboticabal, 21 de fevereiro de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CARLOS HENRIQUE CAPRIO – Filho de Antonio Caprio e Maria Miltes da Silva, nasceu em 10 de setembro de 1987, em Tanabi-SP. Ingressou no curso de Agronomia na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira Faculdade (FEIS/UNESP), o ano de 2007 e transferiu-se para a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP Câmpus de Jaboticabal (FCAV/UNESP), no ano de 2009. Durante a graduação, foi integrante do Grupo Integração Empresa Universidade (GIEU), vinculado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP Câmpus de Jaboticabal (FCAV/UNESP), onde, juntamente com o grupo, desenvolveu diversos cursos acadêmicos, assim como projetos voltados à comunidade local do município de Jaboticabal. Entre julho e dezembro de 2012 estagiou na University of Kentucky, em Lexington, KY, EUA, onde auxiliou no programa de genética e melhoramento de tabaco sob a orientação do Ph.D. Robert Miller. Estagiou no Departamento de Produção Vegetal da FCAV na área de Tecnologia de Sementes, onde realizou trabalhos com sementes de várias culturas, tais como amendoim, soja, milho, milheto, pimentão e desenvolveu o trabalho de conclusão de curso defendido no ano de 2013. Cumpriu o estágio curricular na Dow AgroSciences, em Jardinópolis-SP, no primeiro semestre de 2014, trabalhando com a cultura do milho. Obteve o título de Engenheiro Agrônomo em julho de 2014. Ingressou em março de 2015 no curso de Pós-Graduação, nível de Mestrado, em Agronomia no programa de Genética e Melhoramento de Plantas da FCAV/UNESP, trabalhando na área de melhoramento clássico com a cultura do milho, sendo bolsista da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e tendo como orientador o Prof. Dr. Gustavo Vitti Mouro. Em 2016 elaborou e ministrou o minicurso intitulado Principais Marcadores Moleculares Utilizados no Melhoramento de Plantas, no XII Curso de Inverno de Genética, sendo um dos autores do capítulo de mesmo título, no livro Tópicos Especiais em Genética Aplicada – volume 3. No mesmo ano participou do projeto de extensão Genética na Escola, que visa transmitir através de aulas conceitos de genética a alunos do ensino médio, aproximando a comunidade e a universidade. Finalizou a dissertação em fevereiro de 2017, obtendo o título de Mestre em Agronomia com ênfase em Genética e Melhoramento de Plantas.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. A cultura do milho	3
2.2. O gênero <i>Azospirillum</i>	5
2.3. Interação genótipo vs inoculação	7
2.4. Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI)	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1. Safra	12
3.2. Safrinha.....	14
3.3. Procedimentos Estatísticos	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1. Safra	19
4.2. Safrinha.....	23
5. CONCLUSÕES.....	33
6. REFERÊNCIAS	34

INTERAÇÃO DE VARIEDADES DE MILHO SOB INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* EM DIFERENTES ÉPOCAS DE SEMEADURA.

RESUMO – O milho é o cereal mais produzido no mundo, porém demanda altas doses de fertilizantes nitrogenados, elevando os custos de produção. Como alternativa, bactérias do gênero *Azospirillum* associadas às raízes tem potencial de disponibilizar nitrogênio às plantas e, assim, reduzir esses custos. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da interação de variedades de milho com a bactéria *Azospirillum brasilense* inoculada via pulverização sobre o solo entre os estádios fenológicos V3 e V5, em duas épocas de semeadura, para diversos caracteres agronômicos. Os experimentos foram realizados no delineamento de blocos ao acaso, com cinco repetições, utilizando 12 variedades experimentais e duas comerciais em dois experimentos distintos: 1) sem adubação nitrogenada de cobertura e com inoculação em pulverização sobre o solo com *Azospirillum brasilense*. 2) com adubação nitrogenada em cobertura e sem inoculação com *Azospirillum brasilense*. Os dados foram submetidos a análise de variância, testes de médias de Tukey e t de Student. O experimento foi conduzido na safra 2015/16 e safrinha 2016, avaliando-se os caracteres produtividade de grãos, altura de planta, altura de espiga, prolificidade, índice de conteúdo de clorofila e NDVI (Índice de Vegetação por Diferença Normalizada) em quatros estádios fenológicos. Observou-se efeito da inoculação para prolificidade, altura de planta e produtividade na safra, índice de conteúdo de clorofila, altura de planta, NDVI (4) e produtividade na safrinha. Os genótipos se diferenciaram para todos os caracteres na safra, não diferindo apenas para prolificidade, NDVI (1), (2) e (3), na safrinha. Ocorreu interação genótipo vs inoculação para a prolificidade e NDVI (2) na safrinha. A inoculação por pulverização sobre o solo com a bactéria *Azospirillum brasilense* entre os estádios V3 e V5 favorece o desempenho dos caracteres, assim como da produtividade de grãos em ambas as safras. O efeito do *Azospirillum brasilense* em promover o desenvolvimento das variedades de milho é mais evidenciado na safrinha. O NDVI foi pouco elucidativo em avaliar o efeito da interação das variedades milho frente à inoculação com *A. brasilense* na safrinha.

Termos para indexação: *Zea mays* L., bactéria diazotrófica, caracteres agronômicos, nitrogênio, safras.

INTERACTION OF MAIZE VARIETIES UNDER INOCULATION WITH *Azospirillum brasilense* IN DIFFERENT SEEDING SEASONS.

ABSTRACT – Maize crop is the most produced cereal in the world, but it demands high doses of nitrogen fertilizers, increasing the production costs. Alternatively, bacteria of the *Azospirillum* genus associated with the roots have the potential of making nitrogen available to the plants and, thus, reducing these costs. Then, the aim of this research was to evaluate the interaction effect of maize varieties with *Azospirillum brasilense* inoculated by spraying on the ground between the growth stages V3 and V5, for different agronomic characteristics, in different seasons. The experiment was carried out in a randomized complete block design with five replications, using 12 experimental and two commercial varieties in two different treatments: 1) without nitrogen fertilization in cover and under spraying inoculation on the ground with *Azospirillum brasilense*; 2) under nitrogen fertilization in cover and without inoculation with *Azospirillum brasilense*. The data have submitted to analysis of variance, Tukey averages and Student t tests. The experiment was conducted in the 2015/16 and 2016/16 seasons, evaluating grain yield, plant height, ear height, prolificacy, chlorophyll content index and NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) in four growthstages. The inoculation was effective for prolificacy, plant height and yield in the season, chlorophyll content index, plant height, NDVI (4) and yield in the late season. The genotypes differed for all traits at season and did not differentiate for prolificacy, NDVI (1), (2) and (3) at late season. Genotype vs. inoculation interaction occurred for prolificacy and NDVI (2) at late season. The inoculation by spraying on the soil with the bacterium *Azospirillum brasilense* between stages V3 and V5 favors the performance of the characters, as well as grain yield in both crops. The effect of *A. brasilense* on promoting the development of maize varieties is more evident at the late season. The NDVI was little elucidative in evaluating the effect of the interaction of the maize varieties against the inoculation with *A. brasilense* in the late season.

Index terms: *Zea mays*, diazotrophic bacteria, agronomic traits, nitrogen, crops

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) está entre os principais cereais cultivados no Brasil, sendo de grande importância econômica, social e cultural. Na safra 2015/2016 foram cultivados cerca de 15,9 milhões de hectares da cultura no país, com produtividade média de 4.189 kg ha⁻¹, havendo uma perspectiva global de aumento na demanda e no preço do produto (CONAB, 2016).

A cultura do milho é, geralmente, influenciada por problemas de estresse ambiental, dentre os quais se destacam aqueles relacionados à baixa fertilidade dos solos, principalmente, em termos de disponibilidade de nitrogênio (N). Desta maneira, fertilizantes nitrogenados são comumente utilizados em lavouras de milho, de modo a suprir deficiência deste nutriente no solo, para atender às necessidades fisiológicas da planta e proporcionar altas produtividades. No entanto, a partir do custo econômico e ambiental dos processos industriais de fabricação associado à crescente demanda por alimentos, faz-se necessário desenvolver inovações tecnológicas e incorporá-las à atividade agrícola, visando a racionalização do uso de fertilizantes nitrogenados.

Entre as alternativas viáveis está o aproveitamento dos benefícios gerados pelos microrganismos procariotos capazes de fixar nitrogênio atmosférico e disponibilizá-los às plantas via associação com as raízes vegetais. Estes são representantes de vários grupos filogenéticos bacterianos, os chamados diazotróficos, capazes de colonizar tanto o interior das raízes quanto a rizosfera de plantas. Essa simbiose mutualística gera diversos benefícios, dentre os quais se destaca o estímulo ao crescimento radicular, tornando-o mais volumoso e, conseqüentemente, apto a absorver maiores quantidades de água e nutrientes (MARTÍNEZ-MORALES et al., 2003). Provavelmente pelo maior crescimento radicular e melhor nutrição das plantas, também há vários relatos de maior tolerância a agentes patogênicos de plantas (CORREA et al., 2008).

Os genótipos podem interferir na absorção de nitrogênio, sendo assim, a identificação, a seleção e o uso de genótipos de milho mais eficientes na absorção e assimilação de nitrogênio constitui estratégia importante, pois contribuem para o

desenvolvimento da cultura, assim como reduzem a contaminação do meio ambiente por resíduos nitrogenados (REIS JÚNIOR et al., 2000).

Neste sentido, diversas pesquisas envolvendo a associação de genótipos de milho com *Azospirillum brasilense* encontraram resultados positivos, de modo que Hungria (2011), ao inocular genótipos de milho com *A. brasilense*, obteve aumentos de produtividade de 30% em relação ao controle não inoculado e sem adubação nitrogenada de cobertura, enquanto Braccini et al. (2012), nas mesmas condições, observou incremento de 20% na produtividade de grãos. Já Müller et al. (2016), ao associar a inoculação com *A. brasilense* a diferentes doses de N, obteve aumentos de até 28% de produtividade, ao mesmo tempo que Portugal et al. (2016) verificou maiores produtividades nas quatro doses de N testadas (0, 30, 60 e 90kg.ha⁻¹) ao pulverizar *A. brasilense* via foliar em genótipos de milho.

Entretanto, a adoção dessa tecnologia nos sistemas agrícolas ainda é incipiente, pois os resultados variam de acordo com a cultivar, condições edafoclimáticas, formas de inoculação e metodologia de condução da pesquisa. Assim, encontrar genótipos de milho responsivos à inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum*, associando-os a programas de melhoramento genético visando aumentar a produção de grãos são de extrema importância para o desenvolvimento de novas cultivares.

A partir do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da interação de variedades de milho com a bactéria *Azospirillum brasilense* inoculada em pulverização sobre o solo entre os estádios enológicos V3 e V5, para diversos caracteres agronômicos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma gramínea da família Poaceae, monoica, alógama, anual, robusta, ereta e diplóide ($2n=2x=20$) (PATERNIANI e CAMPOS, 1999). É originária do teosinto, subespécie mexicana (*Zea mays* ssp. mexicana (Schrader) Iltis, há mais de 8000 anos e que é cultivada em muitas partes do Mundo (Estados Unidos da América, República Popular da China, Índia, Brasil, França, Indonésia, África do Sul, etc.).

Botanicamente, o milho pertence ao grupo de plantas C4, seu sistema radicular é do tipo fasciculado alcançando até 3 m de profundidade no solo, enquanto grande parte das raízes encontra-se na camada de 0-30 cm. O caule é do tipo colmo cheio, constituído por nós e entrenós enquanto suas folhas lanceoladas-paralelinérveas são inseridas no caule alternadamente, além de apresentarem inflorescências masculina, pendão, e feminina, espiga, sendo o fruto classificado como cariopse (MAGALHÃES; DURÃES e PAIVA, 1994).

A domesticação da cultura do milho ocorreu por meio da seleção visual no campo, considerando importantes características, tais como produtividade, resistência a doenças e capacidade de adaptação, dentre outras, dando origem a variedades hoje conhecidas (GUIA DO MILHO, 2006). Assim, de uma gramínea com vários colmos, espiguetas pequenas e com poucas sementes, transformou-se numa planta ereta, com um único colmo, monóica, com espigas maiores contendo maior quantidade e qualidade de suas sementes (PEIXOTO, 2002).

A sua grande adaptabilidade representada por variados genótipos, permite o seu cultivo desde o Equador até ao limite das terras temperadas e desde o nível do mar até altitudes superiores a 3600 metros, encontrando-se, assim, em climas tropicais, subtropicais e temperados (BARROS e CALADO, 2014). É possível que a cultura do milho seja aquela com maior variabilidade genética entre as plantas cultivadas, visto que existe diferenças genéticas para, praticamente, todos os caracteres de plantas, sendo a manutenção desta variabilidade, mantida em bancos de germoplasma, os quais mantêm

a diversidade de tipos individualizados e sob condições controladas de raças (FORNASIERI FILHO, 2007).

Comercialmente, existem no mercado variedades e híbridos de milho. Os híbridos são indicados para sistemas de produção que utilizam alta tecnologia, podendo ser simples (cruzamento entre duas linhagens puras), triplos (cruzamento entre uma linha pura e um híbrido simples) ou duplos (cruzamento entre dois híbridos simples). Enquanto as variedades são recomendadas para plantios menos tecnificados, sendo obtidas por polinização natural através da seleção de grupos de plantas com características desejáveis, apresentando certa variabilidade, porém com características genéticas comuns (CRUZ et al., 2010).

Em termos socioeconômicos, a cultura do milho tem papel incontestável no Brasil e no mundo, devido à sua excepcional posição entre as espécies agrícolas exploradas (MÔRO e FRITSCHKE, 2015). Tal posição se consolida devido ao milho ser o cereal mais produzido no mundo, fundamental para a alimentação animal e humana, assim como indispensável e impulsionadora de diversos complexos agroindustriais em função do seu potencial produtivo, composição química e valor nutricional.

Mundialmente, estima-se que o milho alcançou na safra 2015/16, 961,08 milhões de toneladas de grãos produzidos. Atrás apenas de Estados Unidos e China, o Brasil ocupa o 3º lugar entre os maiores produtores do mundo ao totalizar 67 milhões de toneladas em 15,92 milhões de hectares, alcançando, portanto, produtividade média em torno de 4181 kg.ha⁻¹ (USDA, 2016). Entre as principais regiões produtoras brasileiras estão a região Sul com 35 % e a região Centro Oeste, com 42 % da produção nacional, representadas majoritariamente pelos estados do Paraná, Rio Grande do Sul, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, além de parcelas produtivas consideráveis de outros estados como Minas Gerais e Goiás (CONAB, 2016).

A produção brasileira é classificada em duas safras, Safra de Verão ou Primeira Safra e Safrinha ou Segunda Safra. A primeira é rotineiramente implantada entre setembro a novembro, alcançando na safra 2015/16 a produção de 25,85 milhões de toneladas cultivados em 5,38 milhões de hectares com produtividade média de 4,79 t.ha⁻¹. Já a implantação da Segunda Safra ocorre muitas vezes em sucessão com a cultura

da soja precoce entre os meses de janeiro e fevereiro, alcançando na safra 2015/16 a produção de 40,51 milhões de toneladas cultivados em 10,53 milhões de hectares com produtividade média de 3,86 t.ha⁻¹. (CONAB, 2016). Na atual conjuntura agrícola, o cultivo de cereais demanda grandes quantidades de fertilizantes, principalmente os nitrogenados (CAVALLET et al., 2000).

2.2.O gênero *Azospirillum*

O nitrogênio (N) é essencial para o funcionamento adequado das plantas, pois participa da composição dos aminoácidos conexos, proteína, clorofila, fotossíntese e muitas enzimas essenciais para a manutenção e desenvolvimento celular, processos estes essenciais para o crescimento e o desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular (MARSCHNER, 1995; MALAVOLTA, 2006; TAIZ e ZEIGER, 2013). Sabe-se, por exemplo, que o N representa cerca de 40% do custo total de produção da cultura do milho (BARROS NETO, 2008) e cerca de 50 % desse nitrogênio aplicado sofre a ação da volatilização de amônia, desnitrificação, erosão, imobilização microbiana e lixiviação (REIS JUNIOR et al., 2010, *apud* MELLO, N. de, p. 6), sendo levada pela água até o lençol freático, rios e lagoas, podendo eutrofizar estes ambientes (LEWIS et al., 1984).

O processo de FBN envolve a transformação do nitrogênio atmosférico (N₂), para formas assimiláveis pela planta: amônio (NH₄⁺) ou nitrato (NO₃⁻), através de enzimas dinitrogenases existentes em bactérias diazotróficas presentes no solo (NOVAKOWISKI et al., 2011). Esse processo fornece compostos nitrogenados diretamente para as plantas por meio de associações, ou quando os organismos morrem e os liberam no ambiente, fornecendo o nitrogênio necessário para o desenvolvimento vegetal (LINDEMANN e GLOVER, 2003).

A FBN é um processo significativo no setor agrícola, sendo o processo biológico que contribui com a maior parte do N fixado. Estima-se que fornece cerca de 175 milhões de toneladas de N para a biosfera, ou seja, 65% do total, que o faz ser o segundo processo biológico mais importante do planeta depois da fotossíntese, junto a decomposição orgânica (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Em termos econômicos, acredita-se que o uso racional de fertilizantes nitrogenados associados à fixação

biológica de nitrogênio gera uma economia de 1,2 bilhão de dólares por ano para a cultura do milho e trigo no Brasil (HUNGRIA et al., 2010).

O *Azospirillum* spp. está entre as mais importantes bactérias envolvidas na fixação de N₂ em gramíneas (CÁCERES, 1982). Esta bactéria é caracterizada pelo formato de bastonetes, as quais comumente são uniflageladas, gram-negativas, com movimento vibratório característico e padrão flagelar misto (HALL e KRIEG, 1984). Esses microrganismos se encaixam no grupo dos diazotróficos endofíticos facultativos, pois colonizam tanto o interior das raízes quanto a rizosfera de plantas e ocorrem frequentemente em solos de clima tropical e subtropical (BALDANI et al., 1997). A exemplo, considera-se que de 30 a 90% das amostras de solo coletadas em todo o mundo contém *Azospirillum brasilense* ou *Azospirillum lipoferum* (DÖBEREINER e DAY, 1976).

O efeito da bactéria *Azospirillum* spp. no desenvolvimento do milho e em outras gramíneas tem sido pesquisado, não somente quanto ao rendimento das culturas, mas, também, com relação às causas fisiológicas que, possivelmente, aumentam esse rendimento (BÁRBARO et al., 2008).

Entre os efeitos da simbiose mutualística entre essas bactérias com as plantas estão a capacidade de fixação biológica de nitrogênio (HUERGO et al., 2008), aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas (CASSÁN et al., 2008), solubilização de fosfato inorgânico, produção de hormônios como auxinas e citocininas (TIEN et al., 1979), giberelinas (BOTTINI et al., 1989), regulação da biossíntese etileno (STRZELCZYK et al., 1994), além de uma variedade de outras moléculas bioativas (PERRIG et al., 2007); a solubilização de fosfatos (RODRIGUEZ et al., 2004); o controle biológico de patógenos (CORREA et al., 2008); e o aumento da resistência vegetal a diferentes estresses abióticos (YANG et al., 2009). Um dos efeitos mais marcantes da inoculação com *A. brasilense* na morfologia das raízes é representado pela proliferação de pelos radiculares, tornando-o mais volumoso e, conseqüentemente, apto a absorver maiores quantidades de água e nutrientes (SAIKIA et al., 2012).

Outras respostas fisiológicas ocasionadas pela inoculação com *Azospirillum* estão na melhoria em parâmetros fotossintéticos das folhas, incluindo o teor de clorofila

e condutância estomática, maior teor de prolina na parte aérea e raízes, melhoria no potencial hídrico, incremento no teor de água do apoplasto, maior elasticidade da parede celular, maior produção de biomassa e maior altura de plantas (BARASSI et al., 2008).

Assim, pesquisas envolvendo bactérias do gênero *Azospirillum* são desenvolvidas por muitos melhoristas de planta, pois esses microrganismos se associam e proporcionam benefícios a culturas de grande importância econômica, tais como milho, sorgo, trigo, cana-de-açúcar, entre outras. No entanto, a interação dos genótipos de milho com as estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum* ainda não estão totalmente elucidadas, de modo que pesquisas neste sentido vêm crescendo constantemente no Brasil.

2.3. Interação genótipo vs inoculação

Estudos relacionados com a interação entre genótipos vs inoculação demonstram que há resposta diferenciada dos genótipos quando estes são inoculados com bactérias diazotróficas. Reis Júnior et al. (2000) destacaram que ao relacionar a FBN em espécies não leguminosas, o efeito do genótipo da planta sobre a fixação de N é expressivo. Dessa forma, identificar, selecionar e utilizar de genótipos menos exigentes para o elemento N, são ferramentas importantes (REVOLTI, 2014).

Usualmente, a inoculação com *A. brasilense* proporciona incremento de massa seca, de acúmulo de N nas plantas e produtividade de grãos, principalmente se a associação for entre bactéria e genótipos não melhorados e em condições de baixa disponibilidade de N (OKON e VANDERLEYDEN, 1997). Além destes fatores, o estado nutricional da planta, qualidade dos exsudatos, a existência de microrganismos competidores e a escolha da estirpe adaptadas a cada região, em termos de clima, sistema de manejo e cultivares, também são fatores que podem influenciar na interação entre a planta de milho e a bactéria e afetar a eficiência da FBN (DE QUADROS, 2009). De acordo com Bartchechen et al. (2010), pesquisas envolvendo *Azospirillum* na cultura do milho indicam que a interação entre a bactéria e a planta variam de acordo com a cultivar, condições edafoclimáticas e metodologias de condução dos ensaios. Estas

metodologias envolvem, principalmente: a) formas de inoculação: via semente, sulco de semeadura, aplicação via pulverização foliar ou no colo da planta; e b) delineamentos experimentais, controle de patógenos e pragas, estágio vegetativo da planta no momento da inoculação, entre outras.

No entanto, essas bactérias existem naturalmente na maioria dos solos e apresentam ampla diversidade genética (ARDAKANI et al., 2011), tornando-se necessário utilizar estirpes eficientes na FBN e na produção de hormônios de crescimento e desenvolvimento, capazes de competir com as bactérias nativas bem como, selecionar genótipos de milho responsivos ou aptos a esta associação (BASI, 2013). Assim, seguindo a legislação brasileira para inoculantes estabelecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pesquisadores da Embrapa Soja liderados por Hungria (2011), constataram que as estirpes Ab-V4, Ab-V5, Ab-V6 e Ab-V7 apresentaram maior sobrevivência no solo, maior promoção do crescimento, adaptação às tecnologias utilizadas nas culturas do milho e trigo e incrementos da produtividade do milho de até 30% em relação ao controle não inoculado com a bactéria. Fato este justifica a razão pela qual as fabricantes de inoculantes optarem pelas estirpes Ab-V5 e Ab-V6 em seus produtos destinados às culturas do milho e trigo.

Em termos práticos, existem estudos em que 85% dos experimentos envolvendo milho e bactérias do gênero *Azospirillum*, responderam positivamente, com um aumento médio na produtividade de 472 kg.ha⁻¹ (DÍAZ-ZORITA e FERNANDEZ CANIGIA, 2008). Em diversos experimentos conduzidos na América Latina durante as últimas décadas, indicaram, em sua maioria, crescimento da planta e/ou da produtividade das culturas estudadas (CASSÁN e GARCIA DE SALAMONE, 2008). Costa et al. (2015) estudou a inoculação com *Azospirillum brasilense* em sementes e doses de nitrogênio na cultura de milho no Cerrado e constatou que o uso da bactéria promoveu maior altura de planta, diâmetro do colmo, índice de clorofila foliar, massa seca do colmo e da raiz, altura de inserção da espiga, peso de mil grãos e produtividade de grãos. De maneira similar, Cunha et al. (2014) também encontrou resultados positivos ao inocular sementes de milho com a bactéria, obtendo incremento de produtividade e redução da adubação nitrogenada de cobertura em 16%. Moraes et al. (2016) ao testar várias doses de

inoculante contendo *A. brasilense*, aplicados na semeadura de milho, verificou que a dose de 200mL.ha⁻¹ promoveu incremento da produtividade de grãos.

Segundo Fancelli (2010), o Brasil tem potencial para gerar economia de 30 a 50 kg ha⁻¹ de fertilizantes minerais nitrogenados com adoção da técnica de inoculação com *A. brasilense* no milho na safra e safrinha.

2.4. Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI)

A agricultura de precisão é praticada desde o início da agricultura, quando se trabalhava em pequenas áreas manualmente, tratando de forma diferenciada cada planta ou pequenas áreas. As tecnologias em torno deste tema promoveram significativas contribuições à produção agrícola em relação ao uso racional de insumos e maior controle sobre a variabilidade do solo, proporcionando incrementos nas produtividades das culturas e redução dos impactos ambientais (GUEDES FILHO, 2009).

Entre essas tecnologias, inclui-se os índices de vegetação, os quais têm sido empregados em diversas aplicações para detectar mudanças no uso da terra e para estimar parâmetros biofísicos relacionados ao estado da vegetação (biomassa, índice de área foliar - IAF, % cobertura verde, produtividade primária líquida - NPP, dentre outros) (TUNDISI e MATSUMURA-TUNDISI, 2010). Estes índices são medidas radiométricas adimensionais, que indicam a abundância relativa e a atividade da vegetação verde baseados em combinações lineares, razões ou transformações ortogonais de bandas espectrais, incluindo índice de área foliar e porcentagem de cobertura verde (JENSEN, 2009)

Nos dias atuais, a alta periodicidade fornecida por estes produtos (diária ou em intervalos de 10 ou 16 dias) são de importância fundamental para análises e acompanhamento do desenvolvimento de culturas em áreas extensas (OLIVEIRA, 2014)

Vários índices de vegetação foram criados na perspectiva de ressaltar o comportamento espectral da vegetação, sendo o NDVI o mais utilizado, por ser um indicador sensível da quantidade e da condição da vegetação verde (ANTUNES, 2012). O NDVI pode ser utilizado para detectar a atividade sazonal e fenológica, duração do

período de crescimento, pico verde, mudanças fisiológicas das folhas e períodos de senescência (RODRIGUES, 2010).

Seus valores variam de -1 a +1 e para superfícies com alguma vegetação o NDVI varia de 0 a 1, já para a água e nuvens o NDVI geralmente é menor que zero. (HUETE et al., 2006). O NDVI é calculado a partir da seguinte equação, proposta por Rouse et al. (1973): $NDVI = \frac{IVP - VERMELHO}{IVP + VERMELHO}$ Onde: IVP = Reflectância do Infravermelho Próximo (700 – 1100 nm), VERMELHO = Reflectância do Vermelho (600 a 700 nm) e infravermelho próximo IVP (700 – 1100 nm).

No Brasil, diferentes sensores de espectrometria óptica vêm sendo testados, tais como o GreenSeeker® (BREDEMEIER et al., 2013, POVH et al., 2008; GROHS et al., 2009), Crop Circle® (AMARAL, 2011; POVH, 2011) e N-Sensor® (PORTZ et al., 2012, BRAGAGNOLO et al., 2013a, b). Todos eles utilizam, como princípio, a relação entre ondas no espectro do visível e infravermelho próximo e que estão diretamente ligadas a estrutura da planta.

O GreenSeeker utiliza o Índice de Vegetação Normalizada obtido através dos comprimentos de onda 660 e 770 nm. Este índice é obtido através da emissão de dois tipos de LED (*Light Emitting Diodes*) radiação eletromagnética nas faixas do espectro eletromagnético vermelho (650 nm) e do infravermelho próximo (770 nm), em direção à cultura, que absorve e reflete parte desta radiação. A reflectância é captada por sensores óticos e sua leitura é processada internamente, calculando o NDVI (CORTINOVE et al., 2012).

Os índices utilizados, baseados nas bandas do vermelho e do infravermelho próximo, como o NDVI, realizam a mensuração da quantidade de clorofila e da absorção de energia (MYNENI et al. 1997). Assim, para monitoramento da cultura do milho, o NDVI é uma ferramenta interessante, visto que a absorção de N pela planta afeta a taxa de clorofila presente nas folhas e, conseqüentemente, o índice de vegetação, este aumentando proporcionalmente conforme a quantidade de N assimilada (SERRANO et al., 2000). Coelho (2010) visando diagnosticar a necessidade de N pelo milho através de sensores óticos, verificou uma relação linear e altamente significativa entre as leituras do medidor de clorofila foliar e os índices NDVI. Já a biomassa acumulada na parte aérea é

considerada o indicador fortemente correlacionado com o NDVI em cereais (BELLAIRS et al., 1996). O uso do NDVI como indicador do status de N na cultura é precedido pela análise de relação com as variáveis tradicionais mensuradas para cada cultura, usualmente utilizadas para quantificação da condição nutricional de plantas (RAUN et al., 2002). Além disso, para melhores resultados para as medidas de reflectância visando prever a biomassa e absorção de N, dependem do estágio de desenvolvimento da cultura (MOGES et al., 2004).

Rissini et al. (2015) trabalhando com diferentes doses de nitrogênio em cultivares de trigo, constatou que o NDVI interfere na matéria seca da parte aérea e teor foliar de N do trigo para todas as cultivares estudadas, além de observado relação direta do NDVI com a produtividade para os três estados fenológicos utilizados. Prando (2013) também observou que o NDVI possui correlação positiva significativa com a produtividade de grãos e teor de nitrogênio da folha de trigo. Bredemeier (2016) trabalhando com diferentes doses de N na cultura do milho, constatou que os maiores valores de NDVI entre os estádios fenológicos V4 a V9, valores estes significativamente correlacionadas com maiores rendimentos de grãos no momento da colheita. Povh (2011) considera o NDVI promissor em avaliar as doses de N aplicadas na cultura do milho, pois foi possível realizar regressões significativas das doses de N aplicadas e o NDVI gerado a partir da reflectância da cultura do milho. Matias et al. (2015) objetivando gerar mapas de produtividade para cultura do milho, observou relação direta entre a produtividade obtida a campo e a produtividade estimada com o NDVI.

Apesar de não haver na literatura experimentos relacionando o NDVI com a inoculação com *Azospirillum*, sabe-se que esta bactéria favorece a absorção de nitrogênio pelas raízes das plantas e assim interfere nos índices de clorofila foliar, teores de nitrogênio nas folhas, produtividade e diversos outros caracteres agrônômicos. Portanto, sendo o NDVI capaz de indicar o estado nutricional das plantas de milho, este índice tem potencial para auxiliar na elucidação dos mecanismos de assimilação de N pelas plantas inoculadas com a bactéria diazotrófica em estudo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal/SP, localizada no município de Jaboticabal – SP, a uma altitude média de 583 metros acima do nível do mar. O relevo é caracterizado como suave ondulado e sua localização geográfica é definida: latitude 21° 15' 22"S e longitude 48° 18' 58" WG.

O clima da região é considerado do tipo Aw com transição para Cwa (KÖPPEN, 1948), ou seja, clima tropical com estação seca no inverno e transição para clima subtropical, com chuvas no verão e relativamente seco no inverno. A temperatura média da região é de 22,2°C e a precipitação média anual é de 1451 mm. O solo é classificado como Latossolo Vermelho Eutrófico, com relevo suavemente ondulado (ANDRIOLI e CENTURION, 1999).

3.1. Safra

Foram utilizados 14 genótipos de milho, representados por 12 variedades sintéticas experimentais e duas variedades comerciais (Ipanema e Avaré). A semeadura ocorreu em 18/11/15 sob o delineamento de blocos ao acaso com cinco repetições, utilizando semeadora de parcelas e, para adubação de base, foram utilizados 350 kg.ha⁻¹ da fórmula 8-28-16, representando 28 kg.ha⁻¹ de N, 98 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ e 56 kg.ha⁻¹ de K₂O. Cada parcela foi constituída de duas linhas de cinco metros de comprimento, com espaçamento de 0,50 m entre linhas e 0,33 m entre plantas, com estande de 32 plantas por parcela, representando uma população de 64.000 plantas.ha⁻¹.

Os 14 genótipos foram submetidos a dois experimentos distintos: 1) sem adubação nitrogenada de cobertura com ureia e com aplicação de *Azospirillum brasilense* em pulverização sobre o solo utilizando-se bomba costal com bico dosador do tipo leque (AZ); 2) com adubação nitrogenada de cobertura com ureia em filete contínuo, sob dose de 110 kg.ha⁻¹ e sem aplicação de *Azospirillum brasilense* (CN). Tanto a adubação de cobertura com ureia (110 kg.ha⁻¹), quanto a inoculação com *Azospirillum*, foram realizadas entre os estádios V3 e V5 das plantas de milho. A inoculação foi feita com o

produto comercial Qualifix Graminea (*Azospirillum brasilense*, estirpes AbV5 e AbV6, concentração 5×10^8 células.mL⁻¹), na dose recomendada pelo fabricante (500 mL.ha⁻¹ para pulverização no solo).

Para controle de fungos e insetos, as sementes foram tratadas com solução contendo piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil (100 g i.a. 100 kg semente⁻¹). Para manejo das plantas daninhas e ataque de insetos, foi aplicado solução contendo Atrazina (1,5 kg i.a.ha⁻¹), Metomil (0.086 kg i.a.ha⁻¹) e Tembotriona (0,100 g i.a.ha⁻¹) em pós emergência em 10 DAE (dias após a emergência).

Foram avaliados os seguintes caracteres agronômicos:

a) produtividade de grãos (PG): obtida pela debulha das espigas colhidas das duas linhas das parcelas e posterior pesagem dos grãos colhidos. Após, os dados de produção por parcela foram extrapolados para quilogramas por hectare (kg.ha⁻¹), e a produtividade corrigida para 13% de umidade.

b) altura da planta (AP): distância do solo até a inserção da folha-bandeira. A mensuração foi realizada utilizando régua graduada de cinco em cinco centímetros (cm), avaliada em oito plantas por parcela, expressa em cm;

c) altura da espiga (AE): distância solo até o ponto de inserção da espiga principal. A mensuração foi realizada na mesma planta e momento da mensuração da altura de planta, utilizando régua graduada de cinco em cinco centímetros, avaliada em oito plantas por parcela, expressa em cm;

d) prolificidade (PROL): obtida através da razão entre o número de espigas colhidas na parcela e o número de plantas na parcela, realizado antes da colheita;

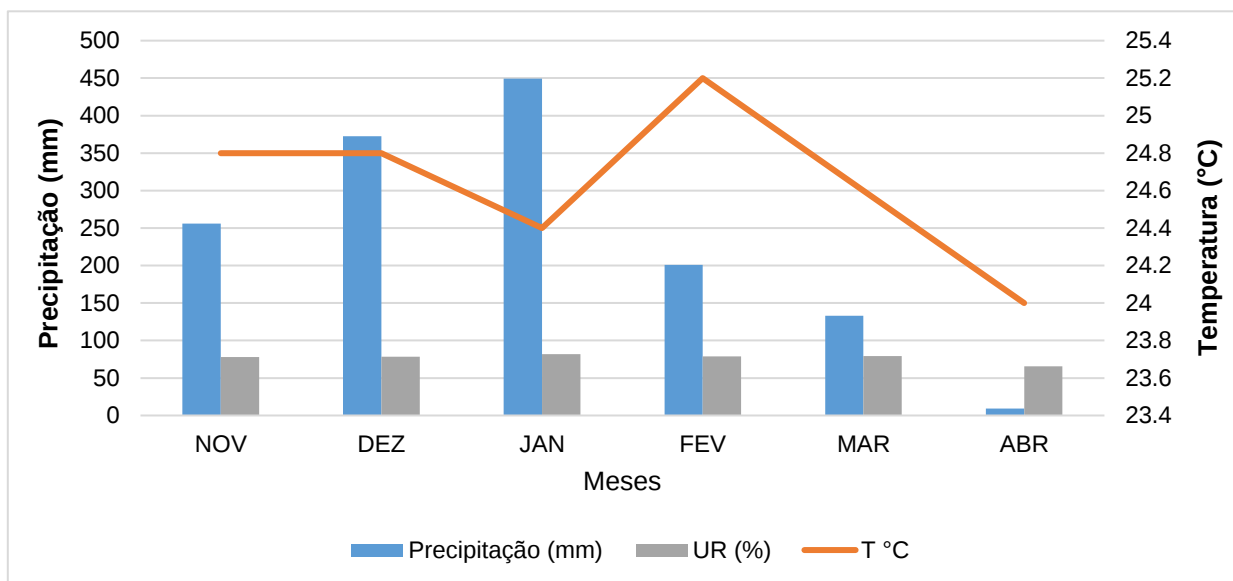
e) índice de conteúdo de clorofila (ICC): obtido através da utilização de clorofilômetros manual (modelo CCM 200) no início do florescimento masculino e feminino, coletando-se os dados a partir de dez plantas por parcela, sendo as medições realizadas na folha da espiga (terço médio).

A temperatura e precipitação média durante o período de safra foi de 24,3 °C, e 273 mm, respectivamente, enquanto a umidade relativa ficou em torno de 77% (Figura 1). Os dados meteorológicos foram fornecidos pela estação agroclimatológica da

FCAV/UNESP, a qual fica há aproximadamente 1 km de distância da Fazenda Experimental onde os experimentos foram conduzidos.

A colheita foi realizada manualmente em 15/04/2016, aos 142 DAE.

Figura 1. Médias de Precipitação, Temperatura e Umidade Relativa durante o período de safra do milho.



3.2. Safrinha

Foram utilizados 14 genótipos de milho, representados por 12 variedades sintéticas experimentais e duas variedades comerciais (Ipanema e Avaré). A semeadura ocorreu em 17/02/2016 sob o delineamento de blocos ao acaso com cinco repetições, utilizando semeadora de parcelas e, para adubação de base, foram utilizados 350 kg.ha⁻¹ da fórmula 8-28-16, representando 28 kg.ha⁻¹ de N, 98 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ e 56 kg.ha⁻¹ de K₂O. Cada parcela útil foi constituída de duas linhas de cinco metros de comprimento, com espaçamento de 0,50 m entre linhas e 0,33 m entre plantas, com estande de 32 plantas por parcela, representando uma população de 64.000 plantas.ha⁻¹.

Os 14 genótipos foram submetidos a dois experimentos distintos: 1) sem adubação nitrogenada de cobertura com ureia e com aplicação de *Azospirillum brasilense* em pulverização sobre o solo utilizando-se bomba costal com bico dosador do tipo leque

(AZ); 2) com adubação nitrogenada de cobertura com ureia em filete contínuo, sob dose de 130 kg.ha^{-1} e sem aplicação de *Azospirillum brasilense* (CN). Tanto a adubação de cobertura com ureia (130 kg.ha^{-1}), quanto a inoculação com *Azospirillum*, foram realizadas entre os estádios V3 e V5 das plantas de milho. A inoculação foi feita com o produto comercial Qualifix Graminea (*Azospirillum brasilense*, estirpes AbV5 e AbV6, concentração $5 \times 10^8 \text{ células.mL}^{-1}$), na dose recomendada pelo fabricante (500 mL.ha^{-1} para pulverização no solo).

Para controle de fungos e insetos, as sementes foram tratadas com solução contendo piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil ($100 \text{ g i.a. } 100 \text{ kg semente}^{-1}$). Para manejo das plantas daninhas e ataque de insetos, foi aplicado solução contendo Atrazina ($1,5 \text{ kg i.a.ha}^{-1}$), Metomil ($0,086 \text{ kg i.a.ha}^{-1}$) e Tembotriona ($0,100 \text{ g i.a.ha}^{-1}$) em pós emergência aos 23 DAE (dias após a emergência).

Foram avaliados os seguintes caracteres agronômicos:

a) produtividade de grãos (PG): obtida pela debulha das espigas colhidas das duas linhas das parcelas e posterior pesagem dos grãos colhidos. Após, os dados de produção por parcela foram extrapolados para quilogramas por hectare (kg.ha^{-1}), e a produtividade corrigida para 13% de umidade.

b) altura da planta (AP): distância do solo até a inserção da folha-bandeira. A mensuração foi realizada utilizando régua graduada de cinco em cinco centímetros (cm), avaliada em oito plantas por parcela, expressa em cm;

c) altura da espiga (AE): distância solo até o ponto de inserção da espiga principal. A mensuração foi realizada na mesma planta e momento da mensuração da altura de planta, utilizando régua graduada de cinco em cinco centímetros, avaliada em oito plantas por parcela, expressa em cm;

d) prolificidade (PROL): obtida através da razão entre o número de espigas colhidas na parcela e o número de plantas na parcela, realizado antes da colheita;

e) índice de conteúdo de clorofila (ICC): obtido através da utilização de clorofilômetros manual (modelo CCM 200-Opti Science) no início do florescimento masculino e feminino, coletando-se os dados a partir de dez plantas por parcela, sendo as medições realizadas na folha da espiga (terço médio).

g) Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI): os dados foram obtidos por meio do leitor ótico ativo de sensoriamento terrestre GreenSeeker Hand Held TM (NTech Industries, Inc., Ukiah, CA), desenvolvido para coletar dados a uma altura variável de até 1,20 m de distância do alvo, com largura constante de 61 cm. O GreenSeeker emite radiação eletromagnética em comprimentos de onda na faixa do vermelho (650nm) e infravermelho próximo (770nm) sobre a superfície vegetal, a qual absorve e reflete parte desta radiação. A reflectância captada pelos sensores óticos é processada internamente, calculando-se o NDVI através da seguinte equação (CORTINOVE et al., 2012):

$$NDVI = \frac{IVP - V}{IVP + V}$$

Onde:

NDVI = Índice de Vegetação por Diferença Normalizada;

IVP = Reflectância do Infravermelho Próximo;

V = Reflectância do Vermelho.

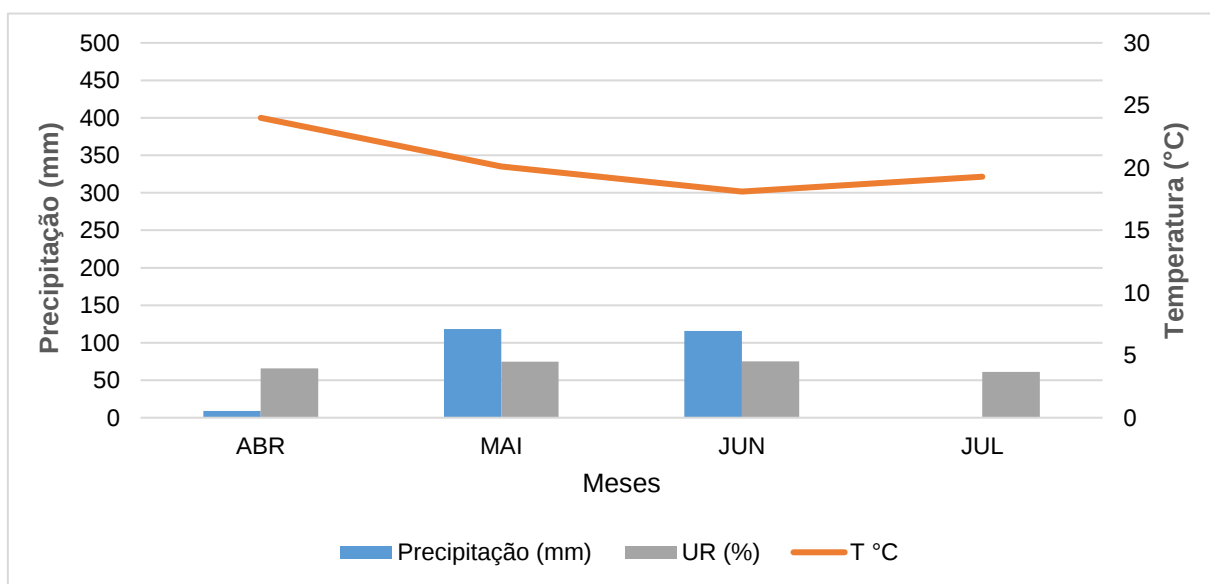
Este sensor é acoplado a um suporte em forma de bastão, o qual é fixado ao corpo do avaliador de modo a permitir mobilidade na captação dos dados. A coleta dos dados foi realizada orientando-se o GreenSeeker sobre as plantas da parcela a ser avaliada, acionando-se o sensor através de um gatilho e o mantendo ativado enquanto percorria-se, lentamente, a linha de cinco metros de plantas da parcela. Ao fim desta, soltou-se o gatilho de modo a desativar a emissão da radiação eletromagnética pelo sensor ótico e encerrar a avaliação da parcela. O processo foi repetido para todas as parcelas individualmente. As avaliações foram feitas em todas as parcelas de cada experimento aos 19DAE (V4-V5), 33 DAE (V8), 47DAE (V10-Pendoamento-VT) e 77DAE (R2-R3). A calibração do GreenSeeker Hand Held TM foi realizada sempre em solo sem vegetação, previamente ao início das avaliações de cada experimento. O sensor é acoplado a um computador portátil chamado GNSS Nomad Trimble, o qual armazena os dados a serem transferidos e analisados em computador. Para cada parcela, fez a média

dos dados captados pelo sensor ótico durante a condução sobre a linha de plantas aferidas.

A temperatura e precipitação média durante o período de safrinha foi de 20,3 °C, e 61mm, respectivamente, enquanto a umidade relativa ficou em torno de 69% (Figura 2). Visando atenuar o efeito do déficit hídrico durante o estágio de enchimento de grãos do milho, foram aplicadas irrigações suplementares utilizando-se um sistema de irrigação por aspersão. Os dados meteorológicos foram fornecidos pela estação agroclimatológica da FCAV/UNESP, a qual fica há aproximadamente 1 km de distância da Fazenda Experimental onde os experimentos foram conduzidos.

A colheita foi realizada manualmente em 20/06/2016, aos 117 DAE.

Figura 2. Médias de Precipitação, Temperatura e Umidade Relativa durante o período de safrinha do milho.



3.3.Procedimentos Estatísticos

O teste de normalidade das variáveis foi baseado no método de Cramer-von-Mises utilizando-se o Software R (R CORE TEAM, 2016). As demais análises estatísticas foram realizadas empregando-se o software GENES (CRUZ, 2008), considerando-se os

genótipos e ambientes como fatores fixos. Separadamente, para cada época de semeadura, realizou-se análise de variância fatorial simples dos experimentos [14 genótipos x 2 ambientes (CN = adubação com ureia; AZ = inoculação com *Azospirillum*)], considerando todos os genótipos e características mensuradas, segundo o modelo de análise em blocos ao acaso, cujo modelo matemático é:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + B_k + A_j + GA_{ij} + E_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} é o valor observado na parcela do genótipo i , no bloco k , no ambiente j ;

μ - média geral do experimento;

G_i - efeito do i -ésimo genótipo ($i = 1, 2, \dots, 14$);

B_k - efeito do k -ésimo bloco ($k = 1, 2, \dots, 5$);

A_j é o efeito do j -ésimo ambiente ($j = 1$ e 2);

GA_{ij} é efeito da interação do i -ésimo genótipo ($i = 1, 2, \dots, 14$) com o j -ésimo ambiente ($j = 1$ e 2);

E_{ijk} é o efeito dos fatores não controlados ou acaso, ou seja, o erro aleatório.

Utilizando-se as médias obtidas das análises de variância fatorial simples dos experimentos (AZ e CN), em cada época de semeadura, para os casos onde houve significância do teste F, foi aplicado o teste de médias de Tukey a 5 % de probabilidade. Para comparação das médias obtidas de cada genótipo entre os experimentos, foi aplicado o teste t de Student.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido às diferentes condições edafoclimáticas existentes entre os dois períodos de avaliação dos experimentos, é interessante discutir os resultados separadamente por época de semeadura, visando favorecer a compreensão da interação entre os genótipos avaliados com as bactérias do gênero *Azospirillum*.

Em ambas as épocas de semeadura, os coeficientes de variação (CV%) para os caracteres avaliados altura de planta, altura de espiga, prolificidade e produtividade de grãos estão de acordo com os preconizados por Scapim, Carvalho e Cruz (1995) (Tabelas 1 e 3). Considerando o índice de conteúdo de clorofila da presente pesquisa, resultados semelhantes foram observados por Revolti (2014), Amaral (2014) e Pereira et al. (2015).

4.1. Safra

Considerando-se a fonte de variação genótipo, verifica-se que os genótipos diferem significativamente entre si, pelo teste F, para todos os caracteres avaliados (Tabela 1). Em relação à fonte de variação inoculação (I), os experimentos geraram diferenças significativas sobre os caracteres prolificidade, altura de planta e produtividade de grãos, demonstrando que houve efeito da inoculação e, ou, da adubação de cobertura, sobre o desempenho destes caracteres. Resultado semelhante foi encontrado por Portugal et al. (2016), que trabalhando com inoculação de *A. brasilense* via pulverização foliar em milho, encontrou diferenças significativas para os caracteres altura de planta e produtividade entre tratamentos com e sem inoculação com a bactéria diazotrófica. Para esta fonte de variação, os demais caracteres não apresentaram diferenças significativas. Ao analisar a interação genótipo vs inoculação (G x I), não se observou diferença significativa para os caracteres avaliados.

Tabela 1. Resumo da análise de variância fatorial simples dos 14 genótipos de milho em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* e sem adubação nitrogenada de cobertura (AZ) e sem inoculação com *Azospirillum brasilense* e com adubação nitrogenada de cobertura (CN).

F.V.	GL	PROL	ICC	AP	AE	PG
Repetição	4	0,02	43,88	567,4	413,4	1889537,9
Genótipo (G)	13	0,10**	110,43**	1485,4**	1260,8**	7985738,1**
Inoculação(I)	1	0,18**	120,71 ^{ns}	752,1**	96,9 ^{ns}	3729220,2**
G x I	13	0,01 ^{ns}	40,42 ^{ns}	60,4 ^{ns}	34,0 ^{ns}	306095,9 ^{ns}
Resíduo	108	0,01	40,57	48,8	26,6	345815,9
Média	-	1,05	58,07	191,6	110,2	6919,6
CV (%)	-	11,59	10,97	3,6	4,7	8,5

Interação genótipo vs inoculação (GxI), coeficientes de variação experimentais em % (CV), prolificidade em espiga.planta⁻¹ (PROL), índice de conteúdo de clorofila (ICC), altura de plantas em cm (AP), altura da espiga em cm (AE), produtividade de grãos em kg.ha⁻¹ (PG). *, ** e ^{ns}, significativo a 5 %, 1 % e não significativo pelo teste F, respectivamente. “-“ não há informações a serem descritas.

Os genótipos inoculados com a bactéria diferenciaram-se para produtividade de grãos, resultado também observado por Martins et al. (2012) ao inocular *A. brasilense* via pulverização foliar em milho (Tabela 2). Entre os experimentos, embora não tenham ocorrido diferenças significativas pelo teste F para a interação genótipo vs inoculação (Tabela 1), foi possível observar, pelo teste t, diferenças significativas a 5 % em produtividade para a testemunha Ipanema, superior quando inoculada com *Azospirillum brasilense* (Tabela 2), que pode ser justificado, pois as bases estatísticas dos testes são distintas. Sob inoculação, os genótipos mais produtivos foram 2, 3, 4, 5, Ipanema e Avaré, enquanto o menos produtivo foi o genótipo 10. Sabendo-se que a produtividade de grãos depende, entre outros fatores, da eficiência da absorção de N e translocação para os grãos em fase de enchimento, infere-se, portanto, que os genótipos avaliados foram responsivos à inoculação com *A. brasilense*, pois a maioria deles não diferiu daqueles onde houve adubação com N em cobertura. Resultados como este também foram

observados por Hungria (2011) ao inocular sementes de milho com *A. brasilense*, obtendo respostas para produtividade de grãos semelhantes ou até mesmo superiores aos genótipos não inoculados e adubados com nitrogênio em cobertura.

O caráter altura de espiga foi 10,7 cm mais baixo para o genótipo 2 inoculado com *A. brasilense*, os demais não se diferenciaram entre os experimentos (Tabela 2). No trabalho de Lana et al. (2012), avaliando o efeito da presença e ausência de adubação nitrogenada de base, com e sem inoculação de *A. brasilense* nas sementes e aplicação de nitrogênio em cobertura, verificaram que a altura de inserção da espiga não sofreu efeito de nenhum desses três fatores analisados, efeito este que atribuíram à influência genética do genótipo.

Os genótipos inoculados com *A. brasilense* diferenciaram entre si pelo teste de Tukey para a altura de planta (Tabela 2). Através do teste t, foi possível observar que o genótipo 1 e Avaré foram beneficiados pela inoculação ao terem incrementadas suas alturas em 4 e 17,2 cm, respectivamente. A produção de hormônios de crescimento pelas bactérias diazotróficas, como a giberelina e auxina, podem justificar esta superioridade, pois segundo Bashan e De Bashan (2005), estes hormônios alteram o metabolismo e morfologia das plantas, levando à melhor absorção de água e sais minerais e, conseqüentemente, o desenvolvimento de plantas mais altas. Os demais genótipos não diferiram entre os experimentos para o caráter altura de planta.

Tabela 2. Médias dos caracteres avaliados em 14 genótipos de milho na safra 2015/16 em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (AZ) e adubação nitrogenada de cobertura com ureia (CN).

G	PG		AP		AE		PROL		ICC	
	AZ	CN	AZ	CN	AZ	CN	AZ	CN	AZ	CN
1	7176,23bcdef	7330,62abc	*186,60de	182,60cd	100,10de	102,90d	1,00b	1,02b	54,41ab	57,49ab
2	7529,90abcde	7103,77abcd	181,00ef	182,00cd	*97,60e	108,30cd	1,04b	0,94b	51,07ab	57,70ab
3	7568,36abcd	7283,65abc	186,70de	177,80cd	104,40cde	106,00cd	1,17ab	1,07ab	58,86ab	56,20ab
4	7713,07abc	7692,49ab	190,02cde	184,40bcd	105,20cde	105,70cd	0,99b	0,94b	60,66ab	59,05ab
5	8410,97ab	7516,97ab	194,10cde	187,90bcd	107,60bcde	106,90cd	*1,06b	0,95b	57,27ab	58,50ab
6	6135,36efg	6222,81cdef	189,60cde	184,22bcd	118,90b	120,80b	1,07b	1,05ab	59,00ab	63,62ab
7	6894,16cdef	6257,73cdef	198,70cd	194,30bc	111,80bc	113,60bcd	1,07b	0,94b	56,11ab	59,04ab
8	5833,92fg	5910,90def	191,20cde	188,10bcd	108,70bcde	111,90bcd	1,02b	0,97b	61,68ab	68,40a
9	6926,95cdef	6799,11abcde	201,50bc	193,50bc	117,60b	116,60bc	1,44a	1,30a	48,04b	53,91b
10	5172,85g	5128,34f	170,80f	173,40d	82,30f	85,70e	1,03b	0,92b	62,70a	56,30ab
11	6172,85defg	5684,40ef	187,40de	186,00bcd	111,20bcd	115,70bc	1,01b	0,99b	58,28ab	59,41ab
12	7189,10bcdef	6595,71bcde	200,80bc	201,2b	114,00bc	113,50bcd	1,03b	0,97b	54,22ab	59,71ab
Ipanema	*7687,44abc	7116,22abcd	224,80a	220,10a	133,40a	134,70a	1,17ab	0,97b	62,00ab	59,09ab
Avaré	8748,82a	7946,72a	*212,20ab	195,00bc	118,70b	112,50bcd	1,10b	1,13ab	55,63ab	57,52ab
Médias	7082,81	6756,40	193,96	189,32	109,39	111,06	1,09	1,02	57,14	59,00

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Genótipos (G), produtividade de grãos em kg.ha⁻¹ (PG), altura de plantas em cm (AP), altura da espiga em cm (AE), prolificidade (PROL), índice de conteúdo de clorofila (ICC). Variedades 1 a 12, sintéticas. Ipanema e Avaré, variedades comerciais. Médias antecedidas de * e **, diferem a 5% e 1%, respectivamente, entre os experimentos AZ e CN, pelo teste t.

Os genótipos mais prolíficos foram 3, 9 e Ipanema em experimento com *A. brasilense*, enquanto no experimento sob adubação de cobertura com ureia, os genótipos com melhor desempenho foram 3, 6, 9 e Avaré (Tabela 2). O genótipo 5 foi significativamente superior quando inoculado com a bactéria diazotrófica, resultado semelhante foi observado por Kappes et al. (2013) em que, os genótipos de milho inoculados com *A. brasilense* e adubados com N de cobertura, apresentaram maiores prolificidades quando comparados aos genótipos adubados com N e não inoculados com a bactéria. Portanto, considera-se que a associação do *A. brasilense* com o milho disponibilizou os recursos necessários para o enchimento dos grãos em mais de uma espiga por planta. Entretanto, apesar deste caráter ser importante para a cultura do milho por estar associado à produtividade e ter-se constado efeito positivo da inoculação via foliar, é interessante ressaltar alguns pontos acerca da interpretação dos resultados. Segundo Veloso et al. (2006), incrementos na prolificidade induzem à formação da segunda espiga, a qual, em alguns casos, pode ser pequena, degranada e deformada, deixando a entender que o aumento da prolificidade não significa crescimento de produtividade de grãos de milho, apesar de ter a sua contribuição

Quanto ao índice de conteúdo de clorofila, o genótipo 9 foi o de menor média, fato este que não refletiu na menor produtividade entre os demais em ambos os experimentos (Tabela 2). Os genótipos restantes não diferiram significativamente entre os experimentos, demonstrando resposta à inoculação com a bactéria para este caráter. É interessante ressaltar que o índice de conteúdo de clorofila está intimamente relacionado com a quantidade de nitrogênio absorvido pelas raízes, inferindo-se, portanto, que a substituição da adubação nitrogenada pela inoculação via pulverização sobre o solo com *A. brasilense* não afetou a absorção deste nutriente a ponto de reduzir a quantidade de clorofila presente nas folhas de milho.

4.2. Safrinha

Tratando-se da fonte de variação genótipo, os caracteres índice de conteúdo de clorofila, altura de planta, altura de espiga, a quarta mensuração do Índice de Vegetação por Diferença Normalizada e produtividade de grãos apresentaram respostas

significativamente diferentes pelo teste F (Tabela 3). Considerando a fonte de variação inoculação (I), verificou-se efeitos significativos para os caracteres índice de conteúdo de clorofila, altura de planta, a quarta mensuração do Índice de Vegetação por Diferença Normalizada e produtividade de grãos. Pereira et al. (2015) ao testar o efeito da inoculação sobre o índice de conteúdo de clorofila, também obteve diferenças significativas entre os genótipos avaliados. Em relação à interação genótipo vs inoculação (G x I), observa-se diferença significativa para a prolificidade, índice de conteúdo de clorofila e a segunda mensuração do Índice de Vegetação por Diferença Normalizada, demonstrando que os genótipos responderam diferencialmente à inoculação e à adubação nitrogenada para estes caracteres.

Através do teste de Tukey, verifica-se que os genótipos 3 e 4 inoculados com *A. brasilense* foram os mais produtivos (Tabela 4). Entre os experimentos, apenas o genótipo 5 não se diferenciou significativamente, observando-se maiores produtividades nos demais genótipos inoculados com *A. brasilense*. Lana et al. (2012) e Revolti (2014) também observaram aumentos na produtividade de grãos com a inoculação de *A. brasilense* na ausência de adubação nitrogenada. A associação de bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* promovem maior ramificação das raízes e formação de pelos radiculares que contribuem para uma maior absorção de nutrientes, culminando com a elevação da produtividade da cultura (BASHAN e DE-BASHAN, 2010).

Tabela 3. Resumo da análise de variância fatorial simples dos 14 genótipos de milho em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* e sem adubação nitrogenada de cobertura (AZ) e sem inoculação com *Azospirillum brasilense* e com adubação nitrogenada de cobertura (CN).

F.V.	GL	PROL	ICC	AP	AE	NDVI 1 ^a	NDVI 2 ^b	NDVI 3 ^c	NDVI 4 ^d	PG
Repetição	4	0,04	94,91	343,04	137,18	0,0041	0,032	0,012	0,03	584646,61
Genótipo (G)	13	0,03 ^{ns}	52,53 ^{**}	1122,05 ^{**}	691,16 ^{**}	0,013 ^{ns}	0,013 ^{ns}	0,005 ^{ns}	0,023 [*]	2232647,13 ^{**}
Inoculação(I)	1	0,04 ^{ns}	392,82 ^{**}	391,04 [*]	57,29 ^{ns}	0,007 ^{ms}	0,023 ^{ns}	0,007 ^{ns}	0,039 ^{**}	40862035,65 ^{**}
G x I	13	0,06 [*]	27,94 [*]	40,95 ^{ns}	48,34 ^{ns}	0,017 ^{ns}	0,017 [*]	0,005 ^{ns}	0,007 ^{ns}	253974,67 ^{ns}
Resíduo	108	0,03	14,81	68,81	37,82	0,012	0,008	0,004	0,006	196896,56
Médias	-	0,81	20,94	182,10	97,30	0,359	0,645	0,673	0,520	3013,98
CV (%)	-	22,06	18,38	4,55	6,32	30,45	14,39	9,25	14,33	14,72

Interação genótipo vs inoculação (GxI), coeficientes de variação experimentais em % (CV), prolificidade (PROL), índice de conteúdo de clorofila (ICC), altura de plantas em cm (AP), altura da espiga em cm (AE), índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) mensurados nos estádios de desenvolvimento do milho ^a(V4-V5), ^b(V8), ^c(V10-Pendoamento) e ^d(R2-R3); produtividade de grãos em kg.ha⁻¹ (PG). *, ** e ^{ns}, significativo a 5%, 1% e não significativo pelo teste F, respectivamente. “-” não há informações a serem descritas.

O caráter altura de planta se diferenciou entre os genótipos inoculados com *A. brasilense* (Tabela 4). As médias das variedades não diferiram significativamente entre os experimentos quando a adubação nitrogenada foi substituída pela bactéria diazotrófica. Resultados equivalentes foram observados para o caráter altura de espiga. A altura de planta é uma característica genética influenciada pelo ambiente (SOUZA et al., 2003), pela população de plantas (BRACHTVOGEL et al., 2012), e principalmente pela disponibilidade do nitrogênio no solo (REPKE et al., 2013), que está diretamente ligada com a altura de inserção da espiga (CORTEZ et al., 2009). O equilíbrio entre altura de planta e espiga são importantes para a cultura do milho, pois a menor distância entre o nível do solo e o ponto de inserção contribui para o melhor equilíbrio da planta e, consequentemente, confere maior resistência ao acamamento (KAPPES et al., 2011).

A prolificidade não caracterizou diferenças dos genótipos entre si em ambos os experimentos, assim como a inoculação com *A. brasilense* não se diferenciou significativamente da adubação com N pelo teste t (Tabela 4). Semelhantemente a Revolti (2014), estudando os efeitos das formas de inoculação com *A. brasilense*, observou que a inoculação com a bactéria diazotrófica não influenciou o caráter em questão. Francisco et al. (2012) também não observou significância para este caráter ao testar diferentes doses de adubação de cobertura em sementes inoculadas com *A. brasilense*. De acordo com Borrás & Otegui (2001), esse é o componente da produção menos afetado por variações nas práticas de manejo e adubação.

Tabela 4. Médias dos caracteres avaliados na safrinha 2016 em experimentos sob inoculação com *Azospirillum brasilense* (AZ) e adubação nitrogenada de cobertura (CN), em genótipos de milho.

	PG		AP		AE		PROL		ICC	
G	AZ	CN	AZ	CN	AZ	CN	AZ	CN	AZ	CN
1	*4024.93cd	2925.18ab	174.50b	178.79bc	90.07b	92.14b	0.62a	0.91a	23,68a	21,35abc
2	*3942.54de	3141.74a	173.38b	178.06bc	94.37b	97.11b	0.87a	0.87a	25,68a	25,21ab
3	**4236.09ab	2623.26abc	171.90b	176.63bc	93.30b	97.38b	0.91a	0.77a	*25,97a	19,13abcd
4	**4302.60a	2854.77abc	180.32b	185.66abc	94.50b	99.00b	0.95a	0.82a	24,18a	19,34abcd
5	3837.52ef	3152.83a	176.40b	183.93bc	94.65b	99.40b	0.82a	0.94a	20,56a	22.01abc
6	**2954.40j	1956.28bc	173.90b	174.25bc	102.87ab	97.29b	0.87a	0.75a	22,73a	17,38abcd
7	**3214.74hi	1844.87c	184.67ab	181.51bc	98.32ab	92.810b	0.85a	0.72a	21,48a	16,83bcd
8	**3119.12i	2189.43abc	178.4b	183.78bc	94.78b	96.50b	0.82a	0.74a	*21,37a	15,92cd
9	**3304.13gh	2141.67abc	181.28b	182.17bc	94.09b	99.60b	0.98a	0.80a	22,16a	18,00abcd
10	**2619.71k	2039.72bc	167.05b	166.69c	82.45b	76.80c	0.82a	0.78a	24,31a	19,51abcd
11	*2992.01j	2349.48abc	174.10b	180.39bc	94.69b	99.43b	0.90a	0.87a	*21,50a	18,50abcd
12	**3342.35g	2077.04bc	193.13ab	196.96ab	101.67ab	98.75b	0.80a	0.61a	23,23a	18,77abcd
Ipanema	**3743.50f	2450.72abc	211.4a	207.80a	119.27a	120.10a	0.83a	0.77a	19,34a	12,27d
Avaré	**4125.60bc	2885.24ab	185.50ab	196.20ab	98.20ab	104.90b	0.82a	0.80a	20,42a	25,42a
Médias	3554.24	2473.73	180.43	183.77	96.66	97.94	0.85	0.80	22,61	19,26

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Genótipos (G), produtividade de grãos em kg.ha⁻¹(PG); altura de plantas em cm (AP), altura da espiga em cm (AE), prolificidade em espigas.planta⁻¹ (PROL), índice de conteúdo de clorofila (ICC); Variedades 1 a 12, sintéticas. Ipanema e Avaré, variedades comerciais. Médias antecedidas de * e **, diferem a 5% e 1%, respectivamente, entre os experimentos AZ e CN, pelo teste t.

O índice de conteúdo de clorofila não se diferenciou entre os genótipos inoculados, embora os genótipos 3, 8 e 11 tenham apresentado médias significativamente superiores às observadas no experimento com adubação nitrogenada, indicando resposta dos genótipos avaliados à inoculação (Tabela 4). Resultados semelhantes foram observados por Barassi et al. (2008) e Longhini et al. (2016), ao obterem maiores médias de teores de clorofila em genótipos de milho inoculados com *A. brasilense* do que quando não inoculados. Infere-se, portanto, que a inoculação com *A. brasilense* promoveu incremento no parâmetro fotossintético desses genótipos, o que pode ter influenciado na superioridade produtiva dos mesmos em relação ao experimento não inoculado. Considerando os demais genótipos em que não houve diferença significativa para o índice de conteúdo de clorofila entre os experimentos, resultados análogos foram obtidos por Portugal et al. (2016), ao inocularem genótipos de milho e aplicarem diferentes doses de N em cobertura. A partir do exposto, sugere-se que a relação entre os índices de conteúdo de clorofila foliar com as produtividades obtidas é variável entre os genótipos estudados.

A primeira avaliação do Índice de Vegetação por Diferença Normalizada não se diferenciou quando a inoculação com *A. brasilense* foi substituída pela adubação nitrogenada (Tabela 5). Considerando-se que a inoculação, assim como a adubação nitrogenada de cobertura foram realizadas poucos dias antes desta avaliação, infere-se que a interação das raízes com as bactérias ainda era pouco expressiva devido à baixa demanda por nitrogênio neste estágio de desenvolvimento (V4-V5), critério válido também para o experimento onde houve adubação com ureia em cobertura. Assim, a manifestação de diferenças significativas quanto ao teor de clorofila foliar e biomassa acumulada na parte aérea não foram detectadas pelo sensor ótico utilizado.

Tabela 5. Médias dos índices de vegetação por diferença normalizada (NDVI) avaliados na safrinha 2016 em experimentos sob inoculação com *Azospirillum brasilense* (AZ) e adubação nitrogenada de cobertura (CN), em genótipos de milho.

	NDVI 1 ^a		NDVI 2 ^b		NDVI 3 ^c		NDVI 4 ^d	
G	AZ	CN	AZ	CN	AZ	CN	AZ	CN
1	0.34a	0.35a	0.64a	0.66ab	0.69a	0.62a	0.52ab	0.56ab
2	0.38a	0.46a	0.63a	0.65ab	0.68a	0.68a	0.50ab	0.58ab
3	0.43a	0.28a	0.67a	0.59ab	0.63a	0.69a	0.48ab	0.51ab
4	0.34a	0.34a	0.70a	0.57b	0.63a	0.71a	0.52ab	0.57ab
5	0.34a	0.43a	0.65a	0.64ab	0.64a	0.70a	0.55a	0.61ab
6	0.35a	0.38a	0.63a	0.62ab	0.69a	0.64a	0.45ab	0.46b
7	0.37a	0.39a	*0.54a	0.68ab	0.61a	0.68a	0.48ab	0.54ab
8	0.27a	0.27a	**0.63a	0.78a	0.69a	0.72a	0.58a	0.54ab
9	0.42a	0.30a	0.58a	0.61ab	0.69a	0.70a	0.46ab	0.51ab
10	0.46a	0.34a	0.64a	0.75ab	0.70a	0.66a	0.43ab	0.51ab
11	0.44a	0.31a	0.63a	0.62ab	0.63a	0.62a	*0.39b	0.47b
12	0.32a	0.31a	0.57a	0.68ab	0.68a	0.70a	0.55a	0.52ab
Ipanema	0.33a	0.37a	0.73a	0.71ab	0.69a	0.69a	0.55a	0.47b
Avaré	0.32a	0.39a	0.60a	0.66ab	0.67a	0.68a	0.55ab	0.64a
Médias	0.37	0.35	0.63	0.66	0.67	0.68	0.50	0.54

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Genótipos (G); índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) mensurados nos estádios de desenvolvimento do milho ^a(V4-V5), ^b(V8), ^c(V10-Pendoamento) e ^d(R2-R3). Variedades 1 a 12, sintéticas. Ipanema e Avaré, variedades comerciais. Médias antecedidas de * e **, diferem a 5% e 1%, respectivamente, entre os experimentos AZ e CN, pelo teste t.

Em relação à segunda avaliação do Índice de Vegetação por Diferença Normalizada, os genótipos 7 e 8 apresentaram valores inferiores quando inoculados com a bactéria, considerando este estágio de desenvolvimento vegetativo do milho (V8) (Tabela 5). No entanto, como já citado anteriormente, esses genótipos apresentaram produtividades, significativamente, superiores quando inoculados com *A. brasilense*, indicando que houve interação benéfica da bactéria diazotrófica com as plantas de milho em termos nutricionais. Como relatado por Vian (2015), a utilização do sensor óptico ativo GreenSeeker na estimativa da condição nutricional das culturas é influenciada por variadas interações solo-planta, sendo que as diferentes respostas na reflectância podem não estar associadas apenas ao estado nutricional da planta, mas também serem

decorrentes de outros estresses bióticos e, ou, abióticos presentes no estágio de avaliação. É neste estágio (V8) em que o número de fileiras de grãos de milho é definido, assim como o crescimento dos internódios é bastante suscetível à estresses hídricos e deficiências nutricionais, sendo de grande importância que as demandas por N e outros nutrientes pelas plantas sejam supridas.

Considerando-se a terceira avaliação do Índice de Vegetação por Diferença Normalizada, não houve diferenças significativas entre os experimentos nos estádios de desenvolvimento da planta de milho avaliados (V10-VT). (Tabela 5). É na fase de pendoamento (VT) que a planta de milho atinge o máximo desenvolvimento e crescimento, sendo que estresses nutricionais no período de duas semanas antes até duas semanas após este estágio, pode gerar grande redução na produção de grãos (MAGALHÃES, 2006). A biomassa da parte aérea em cereais é altamente correlacionada com o NDVI (BELLAIRES et al., 1996), inferindo-se que a substituição da adubação nitrogenada com ureia pela inoculação em pulverização sobre o solo com *A. brasilense* não alterou a geração e acúmulo de biomassa nas plantas de milho de maneira detectável pelo sensor ótico.

Por fim, foi durante a transição entre os estádios grão bolha d'água e grão leitoso do milho (R2-R3) que ocorreu a quarta avaliação do Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (Tabela 5). Nesta fase houve diferença significativa entre os genótipos, assim como entre os experimentos, em que o genótipo 11 inoculado com *A. brasilense* obteve valores menores em relação ao adubado com N para este caráter. Entre esses estádios, a estrutura vegetal da planta de milho já está formada, de modo que o N e nutrientes continuam a serem absorvidos e há também realocação desses nutrientes das partes vegetativas para a espiga (MAGALHÃES, 2006). Sendo assim, talvez a realocação de N tenha reduzido o teor de clorofila nas folhas de milho, o qual foi captado pelos sensores ópticos do GreenSeeker, uma vez que as médias desta avaliação foram inferiores às médias da avaliação anterior. Interessante ressaltar que os índices de conteúdo de clorofila foram superiores para este genótipo sob inoculação com *A. brasilense*, porém, a mensuração foi realizada logo após o florescimento, período em que a realocação de N e nutrientes para a espiga ainda não estava ocorrendo em grande

escala. Essas realocações de nutrientes em diferentes quantidades podem estar relacionadas com fatores genéticos, pois para os demais genótipos, a substituição da inoculação com *A. brasilense* pela adubação nitrogenada não proporcionou diferenças significativas.

Tratando-se das produtividades médias de cada experimento nas duas épocas de semeadura, a inoculação com *A. brasilense* foi superior à adubação nitrogenada à base de ureia em 4,83% na safra e 43,68% para a safrinha (Tabela 2) (Tabela 4). Observa-se efeito benéfico da inoculação com *A. brasilense* para ambas as safras, porém, com maior intensidade na safrinha, em que a média do experimento inoculado com a bactéria diazotrófica obteve superioridade de 1080 kg.ha⁻¹. A superioridade em ambas as safras pode ter ocorrido devido à produção de fitormônios pelas bactérias do gênero *Azospirillum*, como a auxina, a qual é responsável pelo aumento do diâmetro das raízes laterais e adventícias, ampliando assim, o volume de solo explorado e promovendo, conseqüentemente, ganhos em rendimento (OKON e VANDERLEYDEN, 1997). Desta maneira, as demandas nutricionais da cultura do milho podem ter sido supridas de forma mais eficiente do que a adubação com ureia durante todo o ciclo da cultura, uma vez fertilizantes nitrogenados estão sujeitos a grandes perdas por lixiviação e volatilização.

Considerando o desempenho dos genótipos inoculados com *Azospirillum brasilense* entre as duas safras, observa-se redução significativa das produtividades (Tabela 4). Segundo De Quadros et al. (2014), as condições edafoclimáticas interferem na adaptação da flora bacteriana e, ocasionalmente, geram variações nos resultados de inoculação de genótipos com *Azospirillum brasilense*. Assim, em caso de condições adversas, as plantas buscam mecanismos alternativos de obtenção dos nutrientes necessários ao seu desenvolvimento vegetativo, levando-as a se relacionarem de maneira mais acentuada com a flora bacteriana presente na rizosfera.

Neste sentido, sabe-se que cultura do milho é plenamente adaptada às condições climáticas do período de safra, as quais, aliadas a condições adequadas de manejo, favorece o desenvolvimento da cultura, de modo que a interação com microrganismos promotores de crescimento presentes no solo é pouco pronunciada. Entretanto, o milho safrinha é cultivado em condições climáticas desfavoráveis (CRUZ, 2010), induzindo que

a interação planta-microrganismos seja mais acentuada, visando suprir as carências hídricas e nutricionais das plantas relativas ao período. Assim, há maior estímulo à produção de fitormônios e fixação biológica de N pelo *A. brasilense* que, em conjunto com outras características provocadas por essas bactérias, atuam no sentido de reduzir os efeitos negativos que o estresse pode causar no desenvolvimento das plantas (ZAIED et al., 2003; POTTERS et al., 2007). Moreira e Araújo (2011) relatam que estas bactérias podem causar mudanças fisiológicas, proporcionar benefícios como aumento da absorção de nutrientes, auxiliar no controle de fitopatógenos, entre outros. Kasim et al. (2013) sugere que a presença de bactérias promotoras de crescimento vegetal, tal como o *A. brasilense*, pode influenciar a expressão de genes relacionados com o estresse hídrico e, conseqüentemente, promover maior tolerância às condições de estresse. Segundo Bashan, Holguin e De-Bashan (2004), quanto maior a interação entre planta-*Azospirillum*, maior o acúmulo de vários pigmentos fotossintéticos (clorofila a e b) e pigmentos fotoprotetivos (carotenoides e xantofila) nas plantas. Assim sendo, a associação planta-microrganismo pode melhorar o desempenho de plantas sob condições adversas e, conseqüentemente, aumentar a produtividade das culturas (SANTOS et al., 2014).

Portanto, considerar que a interação das bactérias com os genótipos de milho foi benéfica em ambas as safras, porém mais intensa na safrinha. Sendo assim, considerando os efeitos gerados pela inoculação com a capacidade dos genótipos estudados em disponibilizar os metabólitos necessários à manutenção da flora bacteriana, infere-se que a interação do *Azospirillum brasilense* com as plantas de milho foi benéfica e tão eficiente quanto à adubação com ureia em termos produtivos.

5. CONCLUSÕES

1. A inoculação por pulverização sobre o solo com a bactéria *Azospirillum brasilense* entre os estádios de desenvolvimento V3 e V5 favorece o desempenho dos caracteres, assim como da produtividade de grãos de milho em ambas as safras.

2. O efeito do *Azospirillum brasilense* em promover o desenvolvimento das variedades de milho é mais evidenciado na safrinha.

3. A agricultura de precisão, por meio do Índice de Vegetação por Diferença Normalizada, é interessante para estudo da relação entre as variedades em dois estádios vegetativos na safrinha, no entanto, foi pouco elucidativo quanto aos efeitos da interação entre *Azospirillum brasilense* e as variedades estudadas.

6. REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A.M.; RAMALHO, M.A.P.; MARQUES JÚNIOR, O.G. Controle genético do “stay green” no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 47, p. 155-167. 1999.
- AMARAL, C. B. **Doses de nitrogênio em cobertura no feijoeiro em sucessão à gramíneas no cultivo de inverno-primavera**. 2014, 44f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2014. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/113787>>. Acesso em: 20 jan. 2017.
- AMARAL, L.R.; AND J.P. MOLIN. Sensor óptico no auxílio à recomendação de adubação nitrogenada em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p.1633-1642, 2011.
- ANDRIOLI, I.; CENTURION, J. F. Levantamento detalhado dos solos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, v. 27,1999. Brasília, **Anais...**Brasília: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999.
- ANTUNES, R. L. S. **Variação espaço-temporal de NDVI Em área de aproveitamento hidroelétrico – UHE, Santo Antônio, Porto Velho (RO)**. 2012. 122 f. Dissertação (Mestrado em Geografia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012. Disponível em: < <http://hdl.handle.net/10183/61679>>. Acesso em: 10 jan. 2017.
- ARDAKANI MR, MAZAHARI D, MAFAKHERI S, MOGHADDAM A (2011) Absorption efficiency of N, P, K through triple inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces* sp., *Glomus intraradices* and manure application. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 17, p. 181-192, 2011.
- BALDANI, J.I.; CARUSO, L.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BFN with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, p.911-922, 1997.
- BARASSI, C.A.; SUELDO, R.J.; CREUS, C.M.; CARROZZI, L.E.; CASANOVAS, W.M.; PEREYRA, M.A. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. ***Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Asociación Argentina de Microbiología, p.49-59, 2008.
- BÁRBARO, I. M.; BRANCALIAÃO, S. R.; TICELLI, M. É possível fixação biológica de nitrogênio no milho. **INFOBIBOS – Informações Tecnológicas**, 2008. Online. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_2/fixacao/index.htm>. Acesso em: 10 jan. 2017.

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

BARROS, J. F. C.; CALADO, J. G. **A cultura do milho**. Évora, 2014. 52f. Material de apoio. Disponível em: <[https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/10804/1/Sebenta milho.pdf](https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/10804/1/Sebenta_milho.pdf)>. Acesso em: 8 jan. 2017.

BARTCHECHEN A, FIORI CCL, WATANABE SH, GUARIDO RC. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasiliense* na produtividade da cultura do milho (*Zea mays* L.). **Campo Digital**, v. 5, n. 1, p. 56-59, 2010.

BASHAN Y, DE BASHAN LE. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth – a critical assessment, **Advances in Agronomy**, v.108, p. 77-136, 2010.

BASHAN Y, DE BASHAN LE. Plant growth-promoting. **Encyclopedia of the Soils Environment**, v.1, p. 103-115, 2005.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G ; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v.50, p.521 577, 2004.

BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. 50p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Centro-Oeste.Guarapuava,2013. Disponível em: http://www.unicentro agronomia. com /destino_arquivo/dissertacao_de_mestrado_simone _basi.pdf. Acesso em 10 nov. 2016.

BELLAIRS, M. TURNER, N.C.; HICK, P.T.; SMITH, R.C.G. Plant and soil influences on estimating biomass of wheat in plant breeding plots using Field spectral radiometers. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 47, p. 1017-1034, 1996.

BORRÁS, L.; OTEGUI, M.E. Maize kernel weight response to postflowering source-sink ratio. **Crop Science**, v.41, n.6, p.1816-1822, 2001.

BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R. Identification of gibberelins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *A. lipoferum*. **Plant Physiology**, v.90, p.45-47, 1989.

BRACCINI AL, DAN LGM, PICCININ GG, ALBRECHT LP, BARBOSA MC, ORTIZ AHT. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of bio-regulators in maize. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 2, p. 58-64, 2012.

BRACHTVOGEL, E. L. B.; PEREIRA, F. R. S.; CRUZ, S. C. S; ABREU, M. L. A. BICUDO, S. J. População, arranjo de plantas uniforme e a competição intraespecífica em milho.

Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas, v. 6, n. 1, p. 75, 2012. Disponível em: <http://www.periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/ccaatropica/article/view/582>. Acesso em: 17/01/2017.

BRAGAGNOLO, J., T.J.C. AMADO, R.S. NICOLOSO, J. JASPER, J. KUNZ, AND T.G. TEIXEIRA, T.G. Optical crop sensor for variable-rate nitrogen fertilization in corn: I. Plant nutrition and dry matter production. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 1288-1298, 2013a.

BRAGAGNOLO, J., T.J.C. AMADO, R.S. NICOLOSO, A.L. SANTI, J.E. FIORIN, AND F.M. TABALDI. Optical crop sensor for variable-rate nitrogen fertilization in corn: II. Indices of fertilizer efficiency and corn yield. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 1299-1309, 2013b.

BREDEMEIER, C.; VARIANI, C.; ALMEIDA, D.; ROSA, A. T. Estimativa do potencial produtivo em trigo utilizando sensor óptico ativo para adubação nitrogenada em taxa variável. **Ciência Rural**, v. 43, n. 7, p. 1147-1154, 2013.

BREDEMEIER, C.; VIAN, A. L.; GIORDANO, C. P. S.; DRUM, M. A.; SILVA, J. A. Classes de NDVI como ferramenta para recomendação de nitrogênio em milho. In: Congresso Brasileiro De Agricultura De Precisão - Conbap, 2016, Goiânia. **Anais...Goiânia Congresso Brasileiro de Agricultura de Precisão - ConBap**, 2016.

CÁCERES, E. A. R.. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp.. American Society for Microbiology. **Applied and Environmental Microbiology**, v.44, n43, p.990-991, 1982.

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**. Asociación Argentina de Microbiología, p.61-86, 2008

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. 268 p.

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 e Ambiental**, v. 4, p. 129-132, 2000.

COELHO, A. M. **Uso de Sensores no Diagnóstico da Necessidade da Adubação Nitrogenada na Cultura do Milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 5 p. (Comunicado Técnico 181).

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira Grãos: 3º Levantamento de Grãos – Safra 2016/17**. Brasília: Conab, 2016. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 15 dez. 2016.

CORREA, O. S.; ROMERO, A. M.; SORIA, M. A.; DE ESTRADA, M. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.). **Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Asociación Argentina de Microbiología, p. 87-95, 2008

CORTEZ, J. W.; FURLANI, C. E. A.; SILVA, R. P. sistemas de adubação e consórcio de culturas intercalares e seus efeitos nas variáveis de colheita da cultura do milho. **Engenharia Agrícola**, v. 29, n. 2, p. 277-287, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69162009000200011 Acesso 17/01/2017.

CORTINOVE, L.; TAUBINGER, L.; AMARAL, L. R.; MOLIN, J. P. Densidade de coleta de dados com sensor ótico ativo para adubação nitrogenada em cana- de-açúcar, milho e trigo. In: Congresso Brasileiro de Agricultura de Precisão, Ribeirão Preto. **Anais**. Ribeirão Preto, 2012.

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**, v. 45, n. 3, p. 304-311. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632015v4534593>. Acesso em: 5 jan. 2017. doi: 10.1590/1983-40632015v4534593.

CRUZ, J. C., PEREIRA FILHO, I. A., GARCIA, J.C., DUARTE, J. O. **Cultivo do Milho: Cultivares**. Sistema de Produção, 6ª ed. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, 2010. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27051/1/Cultivares.pdf>>. Acesso em 26 jan. 2017.

CRUZ, C.D. Programa Genes - Biometria. Viçosa, MG: **UFV**, 2008. 311p.

CUNHA, F. N.; SILVA, N. F. ; BASTOS, F. J. C. ; CARVALHO, J. J. ; MOURA, L. M. F. ; TEIXEIRA, M. B. ; ROCHA, A. C. ; SOUCHIE, E. L. . Efeito da *Azospirillum brasilense* na Produtividade de Milho no Sudoeste Goiano. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo (Online)**, v. 13, p. 261-272, 2014.

DE QUADROS, P. D. **Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. 2009. 74 p. Dissertação(Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009. Disponível em: < www.lume.ufrgs.br/handle/10183/17076>. Acesso em: 13 dez. 2016.

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

DÍAZ-ZORITA, M.; FERNANDEZ CANIGIA, M.V. Análisis de la producción de cereales inoculados con *Azospirillum brasilense* en la República Argentina. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, p.155-166, 2008.

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

FANCELLI, A.L. **Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes na cultura do milho**. Piracicaba: IPNI - International Plant Nutrition Institute Brazil, 2010. 16p. (IPNI. Informações Agrônômicas, 131).

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 2007.

FRANCISCO, E.A.B.; KAPPES, C.; DOMINGUES, L.; FELIPPI, C.L. Inoculação de Sementes de Milho Com *Azospirillum brasilense* e Aplicação de Nitrogênio em Cobertura. In.: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 29, Águas de Lindóia. **Resumos...** In.: Anais do Congresso Nacional de milho e Sorgo, Águas de Lindóia, p. 1285-1291, 2012. Disponível em: <http://www.abms.org.br/29cn_milho/06156.pdf>. Acesso em: 11 dez. 2016.

GARCIA DE SALAMONE, I.E.; DÖBEREINER, J.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain-maize genotype associations as evaluated by ¹⁵N isotope dilution technique. **Biology and Fertility of Soils**, v.23, p.249-256, 1996.

GROHS, D.S., C. BREDEMEIER, C.M. MUNDSTOCK, AND N. POLETO. Modelo para estimativa do potencial produtivo em trigo e cevada por meio do sensor Greenseeker. **Engenharia Agrícola**, v. 29, p. 101-112, 2009.

GUEDES FILHO, O. **Variabilidade espacial e temporal de mapas de colheita e atributos do solo em um sistema de semeadura direta**. 2009. 97 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2009. Disponível em: <http://www.dominiopublico.gov.br /pesquisa /Detalhe ObraForm.do?select_action=&co_obra=133890>. Acesso em: 12 dez. 2016.

GUIA DO MILHO. **Tecnologia do campo à mesa**. Julho, 2006. Disponível em <http://www.cib.org.br/pdf/guia_do_milho_CIB.pdf>. Acesso em 08 de jan de 2017.

HALL, P.G.; KRIEG N.R. Application of the indirect immunoperoxidase stain technique to the flagella of *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.47, n.2, p.433-435, 1984.

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

HUETE, A. R.; KAMEL, D.; SHIMABUKURO, Y. E.; RATANA, P.; SALESKA, S. R.; HUTYRA, L. R.; YANG, W.; NEMANI, R. R.; MYNENI, R. Amazon rainforests green-up with sunlight in dry season. **Geophysical Research Letters**, v. 33, NI06405, p. 1-4, 2006.

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

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**, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.

JENSEN, J. R. **Sensoriamento Remoto do Ambiente: Uma perspectiva em recursos terrestres**. São José dos Campos: Parêntese, 2a ed., 598 p., 2009.

KAPPES, C.; ANDRADE, J. A. C.; ARF, O.; OLIVEIRA, A. C.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P. Desempenho de híbridos de milho em diferentes arranjos espaciais de plantas. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p.334-343, 2011. Disponível em: www.scielo.br/brag/v70n2/12.pdf. Acesso: 17/01/2017.

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**, v. 34, n. 2, p. 527-538, 2013.

KASIM, W. A.; OSMAN, M. E.; OMAR, M. N.; EL-DAIM, I. A. A.; BEJAI, S.; MEIJER, J. Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth-Promoting Bacteria. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.32, n.1, p. 122-130, 2013.

KÖPPEN, W. **Climatologia**. México: Fondo de cultura econômica, 1948. 478p.

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

LEWIS, W. M.; SAUNDERS, J. F.; CRUMPAKER, D. W. & BRENDENCKE, C. M. Eutrophication and land use, Lake Dillon, Colorado. **Ecological Studies**, v.46, p.202, 1984.

LINDEMANN, W.C.; GLOVER, C.R. 2003. **Nitrogen fixation by Legumes. Cooperative extension service**. College of Agriculture and Homes Economics. New México State University. Guide A-129.

LONGHINI, V. Z.; SOUZA, W. C. R. ; ANDREOTTI, M. ; SOARES, N. Á. ; COSTA, N.R. . Inoculation of diazotrophic bacteria and nitrogen fertilization in topdressing in irrigated corn. **Revista Caatinga**, v. 29, p. 338-347, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252016v29n210rc>. Acesso em: 26 jan. 2017.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1994. 27p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 20).

MAGALHÃES, P. C. **Fisiologia da Produção do Milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2006. 10p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 76).

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Editora Ceres, 2006. 631p.

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

MARTÍNEZ-MORALES, L.J, SOTO-URZÚA L., BACA B.E., SÁNCHEZ-AHÉDO J.A. Indole-3-butyric acid (IBA) production in culture medium by wild strain *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Letters**, v.228, p.167-173, 2003.

MARTINS, F.A.D.; ANDRADE, A.T.; CONDÉ, A.B.T.; GODINHO, D.B.; CAIXETA, C.G.; COSTA, R.L.; POMEJBA, A.W.V.; SOARES, C.M.S. Avaliação de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.18, p.113-128, 2012.

MATIAS, J. F. G.; STRECK, L.; AGUILAR, D. D. Geração de mapas de produtividade de milho (*Zea mays*) com índice de vegetação NDVI de imagens Landsat 8. In: Simpósio Brasileiro De Sensoriamento Remoto - SBSR, 17., 2015, João Pessoa - PB. **Anais...**São José dos Campos: Inpe, 2015. v. 17, p. 157 - 162. Disponível em: <<http://www.dsr.inpe.br/sbsr2015/files/p0035.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

MOGES, S.M.; RAUN, W.R.; MULLEN, R.W.; FREEMAN, K.W.; JOHNSON, G.V.; SOLIE, J.B. Evaluation of Green, Red, and Near Infrared Bands for Predicting Winter Wheat Biomass, Nitrogen Uptake, and Final Grain Yield. **Journal of Plant Nutrition**, v. 27, n.8, p. 1431-1441, 2004.

MORAIS, T. P.; BRITO, C. H.; BRANDÃO, A. M.; REZENDE, W. S. Inoculation of maize with *Azospirillum brasilense* in the seed furrow. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 2, p. 290-298. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20160034>. Acesso em 7 jan. 2017. doi: 10.5935/1806-6690.20160034.

MOREIRA, A. L. L.; ARAÚJO, F. F. Produção de Fosfatases, enzima ACC desaminase e antagonismo a fitopatógeno por bactérias, 2011. In: Encontro de Ensino, Pesquisa e Extensão. Presidente Prudente. **Anais...**, v. 7, 5 p, 2011.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MÔRO, G. V.; FRITSCHÉ –NETO, R. Importância e usos do milho no Brasil. In: BORÉM, A.; GALVÃO, J.C.C.; PIMENTEL, M, A. **Milho do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Ed. UFV. cap.1, p 9-23, 2015.

MÜLLER, T.M.; SANDINI, I.E.; RODRIGUES, J.D.; NOVAKOWISKI, J.H.; BASI, S.; KAMINSKI, T.H. Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. **Ciência Rural**, v. 46, n.2, p. 210-215, 2016.

MYNENI, R.B.; NEMANI, R.R.; RUNNING, S.W. Estimation of Global Leaf Area Index and Absorbed Par Using Radiative Transfer Models. **IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing**, v. 35, n. 6, p. 1380-1393, 1997.

NOVAKOWISKI, J. H.; SANDINI, I. E.; FALBO, M. K.; MORAES, A.; NOVAKOWISKI, J. H.; CHENG, N. C. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 1687-1698, 2011.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **Applied and Environment Microbiology**, v.6, n.7, p.366-370, 1997.

OLIVEIRA, T. C. **Variação temporal dos índices de vegetação da soja e cana-de-açúcar e obtenção dos coeficientes de cultura (Kc) a partir do NDVI**. 2014. 144 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014. Disponível em:<http://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFLA_973adb40c8cc2da4bd15fc82662b911d>. Acesso em: 10 jan. 2017.

PATERNIANI, E; CAMPOS, M. S. Melhoramento do milho in: BORÉM, **Melhoramento de espécies cultivadas**, UFV, 1999. 817p.

PEIXOTO, C. DE. **O milho: o rei dos cereais**. 2002. Disponível em: <http://www.seednews.inf.br/portugues/seed62/milho62.shtml>>. Acesso em 08 jan. 2017.

PEREIRA, L. M.; PEREIRA, E. M.; REVOLTI, L. T. M. ; ZINGARETTI, S. M. ; MORO, G. V..Seed quality, chlorophyll content index and leaf nitrogen levels in maize inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, p. 630-637, 2015.

PERRIG, D.; BOIERO, L.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; CASSÁN, F.; LUNA, V. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 75, p. 1143- 1150, 2007.

PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; PERES, A. R. ; GITTI, D. C. ; RODRIGUES, R. A. F ; GARCIA, N. F. S. ; GARE, L. M. . *Azospirillum brasilense* promotes increment in corn production. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, p. 1688-1698, 2016.

PORTZ, G., J.P. MOLIN, AND J. JASPER. Active crop sensor to detect variability of nitrogen supply and biomass on sugarcane fields. **Precision Agriculture**, v.13, p. 33-44, 2012.

POTTERS, G.; PASTERNAK, T. P.; GUISEZ, Y.; PALME, K. J.; JANSEN, M. A. K. Stress induced morphogenic responses: growing out of trouble. **Trends in Plant science**, v. 12, n. 3, p.98–105, 2007.

POVH, F. P. MOLIN, J. P.; GIMENEZ, L. M.; PAULETTI, V.; MOLIN, R.; SALVI, J. V.. Comportamento do NDVI obtido por sensor ótico ativo em cereais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n.8, p. 1075-1083, 2008.

POVH, F. P. **Gestão da adubação nitrogenada em milho utilizando sensoriamento remoto**. 2011. 107 f. (Tese de Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 2011. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11136/tde-23032012-094140/pt-br.php>. Acesso em: 10 jan. 2017.

PRANDO, A. M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada de cobertura no trigo**. 2013. 75 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina - PR, 2013. Disponível em:<<http://www.bibliotecadigital.uel.br/document/?code=vtls000191102>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

R Core Team. **R: a language and environment for statistical computing**. R foundation for statistical computing. Vienna, Austria, 2016.

RAUN, W.R.; SOLIE, J.B.; JOHNSON, G.V.; STONE, M.L.; MULLEN, R.W.; FREEMAN, K.W.; THOMASON, W.E.; LUKINA, E.V. Improving Nitrogen Use Efficiency in Cereal Grain Production with Optical Sensing and Variable Rate Application. **Agronomy Journal**, v. 94, n. 4, p. 815-820, 2002.

REIS JUNIOR., F.B.; REIS, V.M.; SILVA, L.G. & DÖBEREINER, J. Levantamento e quantificação de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.985-994, 2000.

REIS JUNIOR, F. B.; MENDES I. C.; REIS, V. M.; HUNGRIA, M. Fixação Biológica de Nitrogênio: uma revolução na agricultura. 2010. Citado por: MELLO, N. DE. **Inoculação de Azospirillum brasilense nas culturas de milho e trigo**. 2012. 90 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012. Disponível em: <www.ppgagro.upf.br/download/naianademello.pdf>. Acesso em: 11 jan. 2017.

REPKE, R. A.; CRUZ, S. J. S.; SILVA, C. J.; FIGUEIREDO, P. G.; BICUDO, S. J. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 3, p. 214-226, 2013. Disponível em: http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/472/pdf_57. Acesso: 17/01/2017.

REVOLTI, L.T.M **Interação genótipo vs formas de inoculação com Azospirillum brasilense em milho**. 2014. 46 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2014. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/115859>>. Acesso em: 01 dez. 2016.

RISSINI, A. L. L.; KAWAKAMI, J.; GENÚ, A. M. Índice de vegetação por diferença normalizada e produtividade de cultivares de trigo submetidas a doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, p. 1703-1713, 2015.

RODRIGUES, C.P. **Estudo do Fluxo de Carbono utilizando Geotecnologia**. 2010. 92f. Dissertação (Mestrado em Sensoriamento Remoto) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/31364>. Acesso em: 3 jan. 2017.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, v. 91, p. 552-555, 2004.

ROUSE J. W.; HAAS Jr, R. H.; SCHELL J. A., D. W. DEERING, Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS. In. NASA ERTS SYMPOSIUM, 3, 1973. Maryland. **Anais...**Washington, D.C.: NASA, v.1, p. 309-317, 1973.

SAIKIA SP, BORA D, GOSWAMI A, MUDOI KD, GOGOI A. A review on the role of *Azospirillum* in the yield improvement of non-leguminous crops. *African Journal Microbiology Research*, v. 6, n. 6, p. 1085-1102, 2012.

SANTOS, D.; SIQUEIRA, D. L.; SALOMÃO, L. C. C.; CECOM, P. R.; OLIVEIRA, G. P.; MACHADO, D. L. M.; ZUCOLOTO, M. Teores de carboidratos e fluorescência da clorofila a em folhas de limeiras ácidas 'Tahiti' submetidas ao anelamento e incisão anelar de ramos. **Ciência Rural**, v.44, n.10, p.1725-1731, 2014.

SCAPIM, C.A.S.; CARVALHO, C.G.P. de; CRUZ, C.D. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, p.683-686, 1995.

SERRANO, L.; FILELLA, I.; PENUELAS, J. Remote sensing of biomass and yield of winter wheat under different nitrogen supplies. **Crop Science**, v. 40, n. 3, p. 723-731, 2000.

SOUZA, L. C. F.; FEDATTO, E.; GONÇALVES, M. C.; SOBRINHO, T. A.; HOOGERHEIDE, H. C.; VIEIRA, V. V. Produtividade de grãos de milho irrigado em função da cultura antecessora e de doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.2, n.2, p.44-51, 2003.

STRZELCZYK, E.; KAMPER, M.; LI, C. Cytocinin-like-substances and ethylene production by *Azospirillum* in media with different carbon sources. **Microbiological Research**, v.149, p. 55-60, 1994.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Artmed,. 954 p. 2000. 2013

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

TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. M. Impactos potenciais das alterações do Código Florestal nos recursos hídricos. **Biota Neotropical**, v. 10, n.4, p. 67-76, 2010.

USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE), World corn supply and use. **World agricultural supply and demand estimates**. 2016. Disponível em: <https://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>. Acesso em: 7 jan. 2017.

VELOSO, M. E. C.; DUARTE, S. N.; DOURADO NETO, D.; MIRANDA, J. H.; SILVA, E. C.; SOUSA, V. F. Doses de nitrogênio na cultura do milho, em solos de várzea, sob sistema de drenagem subterrânea. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 5, n. 3, p. 382-394, 2006.

VIAN, A.L. **Sensores de Vegetação para Estimativa In Situ do Potencial Produtivo na Cultura do Milho**. 2015. 68 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre RS, 2015. Disponível em: < <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/138227/00989275.pdf?sequence=1> >. Acesso em: 28 dez. 2016.

YANG, J.; KLOEPPER, J. W.; RYU, C. M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 1-4, 2009.

ZAIED, K. A.; EL-HADY, A. H.; AFIFY, A. H.; NASSEF, M. A. Yield and nitrogen assimilation of winterwheat inoculated with new recombinant inoculants of rhizobacteria. *Pakist. International. Journal of Biological Sciences*, v.6, n 4, p.344-358, 2003.