

PRODUTIVIDADE DE MILHO EM FUNÇÃO DA REDUÇÃO DO NITROGÊNIO E DA UTILIZAÇÃO DE *Azospirillum brasilense*

ALEX TEIXEIRA ANDRADE¹, AURINELZA BATISTA TEIXEIRA CONDÉ¹,
ROBSON LUZ COSTA², ALAN WILLIAN VILELA POMELA², ALMIRO LUIZ SOARES²,
FÁBIO AURÉLIO DIAS MARTINS¹, WILLIAN TADEU DE LIMA²
e CLEITON BURNIER DE OLIVEIRA²

¹Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Belo Horizonte, MG, Brasil
alex.andrade@epamig.br, aurinelza@epamig.br, fabio.aurelio@epamig.br

²Laboratório de Bio Controle Farroupilha, Patos de Minas, MG, Brasil
robson@grupofarroupilha.com, alan@grupofarroupilha.com, almiro@grupofarroupilha.com,
willian@grupofarroupilha.com, cleiton@grupofarroupilha.com

Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.15, n.2, p. 229-239, 2016

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da aplicação foliar do produto composto por *Azospirillum brasilense*, estirpe Ab-V5, quanto à produtividade de milho cultivado com diferentes doses de nitrogênio (N). Utilizaram-se os seguintes tratamentos: 1) testemunha absoluta; 2) 50% de N; 3) 100% de N; 4) sem uso de N e aplicação de Ab-V5; 5) 50% de N e aplicação de Ab-V5; 6) 100% de N e aplicação de Ab-V5; 7) 100% de N e inoculação da semente com produto comercial registrado para a cultura (100 mL/20 kg de sementes). Em todos os locais avaliados, observou-se significativa diferença de produtividade quando a adubação de 100% de N era utilizada e também o Ab-V5 em comparação com o tratamento que continha somente a quantidade de 100% de N. O isolado Ab-V5 foi pulverizado em parte aérea e não teve sua ação no solo como as bactérias diazotróficas simbiotes. Ao fazer uma análise de fitohormônios do Ab-V5, destacou-se a presença de ácido indolacético que, sabidamente, promove o crescimento radicular, favorecendo maior absorção de nutrientes e água.

Palavras-chave: bactérias diazotróficas, aplicação foliar, adubação nitrogenada, *Zea mays*.

EFFECT OF DECREASED NITROGEN DOSES AND USE OF *Azospirillum brasilense* ON MAIZE PRODUCTIVITY

ABSTRACT – The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of foliar inoculation of a product based on *Azospirillum brasilense*, the Ab-V5 strain, in the productivity of maize, with different doses of Nitrogen. The treatments used were: control, 50% Nitrogen, 100% Nitrogen, no Nitrogen and Ab-V5, Ab-V5 plus 50% Nitrogen, Ab-V5 plus 100% Nitrogen, 100% Nitrogen plus seed inoculation with Master Fix[®] (100 mL/20 kg of seed). Significant difference was observed in maize productivity only for the treatment consisting of Ab-V5 plus 100% Nitrogen, superior to the treatment consisting of 100% Nitrogen. In addition, a suspension containing strains of Ab-V5 was sprayed on shoots, with no effect on soil as the symbiont diazotrophic bacteria. The analysis of phytohormones of Ab-V5 showed the presence of auxine, which promote root growth, improving nutrient and water absorption.

Key words: diazotrophic bacteria, foliar inoculation, nitrogen treatment, *Zea mays*.

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta nativa das Américas e base alimentar de todas as civilizações do continente. Das mais de 300 raças de milho identificadas no mundo, praticamente todas tiveram sua origem nos trabalhos pioneiros dessas civilizações (Lerayer, 2006). No Brasil, a cultura do milho tem grande importância social, econômica e cultural, com aproximadamente 15 milhões de hectares cultivados, em grande parte, por pequenos e médios agricultores (Conab, 2015). É uma das culturas mais exigentes e responsivas à aplicação de fertilizantes, principalmente os nitrogenados, apresentando incrementos em vários caracteres influenciando na produção final quando do incremento da aplicação (Ohland et al., 2005; Fancelli, 2003).

O efeito da aplicação da bactéria *Azospirillum* spp. no desenvolvimento das gramíneas tem sido pesquisado nos últimos anos, não somente quanto ao rendimento das culturas, mas também com relação às causas fisiológicas, tais como produção de auxinas (García-Olivares et al., 2007), que, possivelmente, contribuem no aumento da produtividade da cultura. A inoculação com a bactéria *Azospirillum* spp. é uma alternativa promissora, pois esses microrganismos irão atuar na disponibilidade da produção de auxinas, substâncias responsáveis pelo estímulo do crescimento (Reis Júnior et al., 2008).

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) de vida livre que é encontrado em praticamente todos os lugares da Terra. As BPCP correspondem a um grupo de microrganismos benéficos às plantas devido à capacidade de colonizar a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas (Davison, 1988; Kloepper et al., 1989). Há relatos de que as bactérias desse gênero podem ser endofíticas facultativas (Döbereiner

& Pedrosa, 1987; Huergo et al., 2008). A espécie *Spirillum lipoferum* foi inicialmente descrita por Beijerinck e, em 1978, foi proposta a sua reclassificação como *Azospirillum*, juntamente com a descrição de duas espécies, *Azospirillum lipoferum* e *Azospirillum brasilense* (Tarrand et al., 1978). Atualmente, são 15 espécies descritas neste gênero (Reis et al., 2010).

Além do efeito sobre a cultura do milho, a bactéria do gênero *Azospirillum* possui os seguintes benefícios como inoculante: a) a bactéria é endofítica, ou seja, penetra nas raízes das plantas; b) apresenta antagonismo a agentes patogênicos; c) produz fitormônios; e d) ocorre em todos os tipos de solo e clima.

Atualmente, o tratamento das sementes com defensivos agrícolas feitos na indústria inviabiliza a inoculação na semente, mas a aplicação foliar é uma alternativa para a utilização do *Azospirillum*, além de ser mais prática. Martins et al. (2012), ao compararem a inoculação da semente com a aplicação do *Azospirillum* por via foliar, constataram que esta última mostra-se uma excelente opção para utilização em gramíneas, pois coincide com a fase de aplicação de herbicida, facilitando o manejo para o agricultor e com resultados melhores ou iguais ao da inoculação na semente. Resultados semelhantes foram relatados por Costa et al. (2015), ao avaliarem a segunda safra de milho, com resultados de ganhos de produtividade com inoculação da semente e aplicação foliar.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar em diferentes locais em condições de campo a eficiência da aplicação foliar do produto composto por *Azospirillum brasilense*, estirpe Ab-V5, quanto à produtividade de milho cultivado com diferentes doses de nitrogênio.

Material e Métodos

Os experimentos foram realizados em quatro áreas experimentais localizadas nos municípios de Patos de Minas, MG, Lavras, MG, Rio Paranaíba, MG e Lambari, MG. As parcelas apresentaram 6,0 m de comprimento e 4,0 m de largura, constituídas de cinco linhas, espaçadas em 0,80 m e com cerca de 5 sementes/metro linear na semeadura, sendo as três linhas centrais consideradas como área útil (12,0m²). O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, com sete tratamentos e quatro repetições.

As características químicas e físicas do solo foram analisadas antes da implantação dos ensaios (Tabela 1). A dose de nitrogênio (N) indicada para a cultura nas condições de cultivo de sequeiro é de 180 kg de N por hectare (Alves et al., 1999).

A bactéria *Azospirillum brasilense*, estirpe Ab-V5, utilizada foi proveniente do produto comercial Azos[®] na concentração de 1x10⁸ unidades formadoras de colônias/mL. A bactéria Ab-V5 foi amplamente estudada pela Embrapa Soja e pela Universidade Federal do Paraná e hoje se encontra na lista das bactérias aprovadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) como constituinte de inoculantes registrados para milho e trigo. O Ab-V5 foi aplicado via pulverização na dose de 500 mL/ha no estádio v3 / v4 com volume de calda de 200 L/ha.

As adubações de nitrogênio variaram de acordo com os tratamentos da seguinte forma: (1) testemunha absoluta, sem uso de N ou da estirpe Ab-V5; (2) uso de 50% de N indicado para a cultura; (3) uso de 100% da dose de N indicado para a cultura; (4) sem uso de N e aplicação de Ab-V5; (5) uso de 50% de N indicado para a cultura e aplicação de Ab-V5; (6) uso de 100% de N indicado para a cultura e aplicação de

Ab-V5; (7) uso de 100% de N indicado para a cultura e inoculação da semente com inoculante comercial de acordo com recomendação do fabricante (100 mL/20 kg de sementes). As dosagens de N foram parceladas em 40% no plantio e 60% no estádio v3 / v4.

No tratamento 7, foi utilizada a inoculação com produto comercial à base de *Azospirillum brasilense* (Estirpes Ab-V5 e Ab-V6). A inoculação foi realizada diretamente na semente momento antes da semeadura em uma dose de 100 mL do inoculante líquido para cada 20 kg de semente, com garantia de 2,0 x 10⁸ unidades formadoras de colônia (UFC)/mL.

As práticas culturais adotadas foram uniformes em todos os ensaios (Cruz et al., 2006), exceto para adubação nitrogenada. A semeadura dos ensaios foi realizada com o auxílio de uma semeadora para abertura dos sulcos, assim como a marcação das linhas de semeadura, sendo distribuído manualmente apenas o adubo nitrogenado. A colheita do milho foi realizada manualmente. Os experimentos foram conduzidos em quatro diferentes ambientes, como descritos abaixo:

- Município de Patos de Minas, MG: em propriedade pertencente à Epamig (Fazenda Experimental de Sertãozinho) (S.: 18°31'01.90''; W.:46°26'19.08''; altitude 926 m). Foi utilizada a cultivar de milho RB 9308 Y. A semeadura foi realizada no dia 21 de novembro de 2012 e a colheita foi realizada no dia 20/04/2013.

- Município de Lavras, MG: em propriedade pertencente à Epamig (Fazenda Experimental de Lavras) (S.:18°04'57.08''; W.:46°29'06.16''; altitude 989 m). Foi utilizada a cultivar de milho RB 9308 Y. A semeadura foi realizada no dia 21 de novembro de 2012 e a colheita do milho foi realizada no dia 09/05/2013.

- Município de Rio Paranaíba, MG: em propriedade pertencente à Coopadap (Estação Experimental

Tabela 1. Resultados analíticos de amostras de solo avaliados em quatro estações experimentais, safra 2012/13.

Análise Química/Física	Unidades	Epamig Patos de Minas/MG	Epamig Lavras/MG	Coopadap Rio Paranaíba/MG	Epamig Lambari/MG
pH Água		5,57	5,37	5,59	5,90
P-rem	mg l ⁻¹	9,26	28,88	9,44	12,93
Mat. Org.	dag kg ⁻¹	3,92	3,54	3,99	3,99
P		68,18	2,73	17,09	10,64
K	mg dm ³	100,00	73,34	156,00	74,00
Ca		1,86	2,58	2,61	2,50
Mg		0,67	1,09	0,74	0,90
Al		0,14	0,11	0,03	0,10
H+Al	cmol/dm ³	4,88	2,90	4,27	3,62
SB		2,79	3,86	3,75	3,59
CTC (t)		2,93	3,97	3,78	3,69
CTC (T)		7,67	6,76	8,02	7,21
m		4,79	2,77	0,79	2,71
V	%	36,33	57,10	46,73	49,79
B		0,21	1,18	0,22	0,24
Cu		10,80	1,36	1,20	1,31
Fe		28,90	24,99	24,80	32,77
Mn	mg/dm ³	68,40	9,49	7,50	12,57
Zn		7,80	1,04	9,10	5,51
S		17,80	11,44	2,60	21,20
Argila		284 g kg ⁻¹	34 %	498 g kg ⁻¹	54 dag kg ⁻¹
Silte		214 g kg ⁻¹	45 %	168 g kg ⁻¹	13 dag kg ⁻¹
Areia		502 g kg ⁻¹	21 %	334 g kg ⁻¹	33 dag kg ⁻¹
COT	dag kg ⁻¹	2,27	-	2,31	-

Legenda:

P, K, Fe, Zn, Mn, Cu: extrator Mehlich I

Ca, Mg, Al: extrator KCl 1 mol/L

CTC (t): Capacidade de Troca Catiônica Efetiva

CTC (T): Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0

Textura – método da pipeta

V: saturação por bases

m: saturação por alumínio

H + Al: extrator: SMP

B: extrator água quente

P-rem: Fósforo Remanescente, concentração de P da solução de equilíbrio

após agitar por 1 h a TSFA com solução de CaCl₂ 10 mmol/L, contendo 60 mg/L de P (1:10).

S: extrator fosfato monocálcico em ácido acético

Mat. Org.: oxidação: Na₂Cr₂O₇ 4N + H₂SO₄ 10N

COT: Carbono Orgânico Total – Oxidação: Na₂Cr₂O₇ 4N + H₂SO₄ 10N

da Coopadap) (S.: 19°12'04.78''; W.:46°10'11.21''; altitude 1133 m). Foi utilizada a cultivar de milho Pioneer 30F53 HX. A semeadura foi realizada no dia 19 de novembro de 2012 e a colheita do milho foi realizada manualmente no dia 27/04/2013.

- Município de Lambari, MG: em propriedade pertencente à Epamig (Estação Experimental da Epamig) (S.:21°56'40.85''; W.:45°18'40.91''; altura 883 m). Foi utilizada a cultivar de milho Pioneer 30F53 HX. A semeadura foi realizada no dia 22 de novembro de 2012 e a colheita do milho foi realizada manualmente no dia 08/05/2013.

Foram colhidas, em todos os experimentos, as espigas da parcela útil, que correspondeu a 12,0 m² (três linhas centrais). Para determinar a produtividade de grãos, as espigas foram debulhadas e pesadas em debulhadora elétrica. Os grãos obtidos tiveram a umidade corrigida para 13% em base úmida.

Os dados experimentais foram submetidos à análise da variância, sendo os efeitos dos tratamentos e interações avaliados pelo teste F, enquanto que as médias dos tratamentos foram comparadas entre si pelo teste Scott-Knott (Scott & Knott, 1974), em nível de significância de 5% de probabilidade. Utilizou-se o programa estatístico Sisvar 5.1 Build 72 (Ferreira, 2007).

Resultados e Discussão

As análises de variância apresentaram resultados significativos para produtividade para todos os experimentos conduzidos. As médias de produtividade variaram entre 1.032 kg.ha⁻¹ em Lambari ao utilizar 0% de N a 10.221 kg.ha⁻¹ em Patos de Minas no tratamento com aplicação de 100% de N e aplicação de Ab-V5. Nestes ensaios conduzidos em condição de sequeiro, para a maioria dos tratamentos, os híbri-

dos de milho apresentaram produtividades superiores à média nacional de milho, que é de 5.040 kg.ha⁻¹ (Conab, 2015), demonstrando que o aumento das doses de nitrogênio e o uso do Ab-V5 auxiliam no incremento da produtividade de grãos. Comparando os tratamentos com 100% de N e 100% de N mais Ab-V5, houve um aumento de 16,65%. Costa et al. (2015), em um experimento comparando diferentes formas de aplicação de *Azospirillum brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6) e doses de nitrogênio, observaram um aumento de 36% na produtividade, quando inoculado na semente, comparada com o tratamento sem inoculação e na dose de 0% de N. Observaram também um aumento de 17% na produtividade quando compararam o tratamento com a inoculação na semente e dose de 50 kg de N com o tratamento com somente dose de 50 kg de N. Os autores também avaliaram a aplicação foliar no milho no estágio de crescimento V4 com o *Azospirillum* Ab-V5 e Ab-V6 e obtiveram aumento de produtividade de 22% quando comparado com o tratamento que também não sofreu adubação nitrogenada. Com a dose de 50 kg de N, houve apenas 2,6% de incremento.

Swędrzyńska & Sawicka (2000), ao inocularem sementes de milho com *Azospirillum brasilense* com a dose de 100 kg.ha⁻¹ de nitrogênio, também observaram que houve incremento na produtividade, vigor e teor de clorofila da planta na ordem de 12%.

Neste presente trabalho, os coeficientes de variação das análises de variância variaram de 5,93% a 18,89%, demonstrando bom controle ambiental, situando-se abaixo do limite máximo aceitável de 20% (Brasil, 1998).

Em Patos de Minas, na produtividade, quando comparada pelo teste de Scott-Knott, houve a formação de três grupamentos (Figura 1), sendo que nos tratamentos onde não houve a aplicação do Ab-V5

houve uma menor produtividade e o melhor tratamento foi a aplicação do Ab-V5 com 100% de N, corroborando com resultados obtidos por Bartchechen et al. (2010). Estes autores, comparando a inoculação na semente e doses de nitrogênio, observaram aumento na produtividade do milho com a inoculação do *Azospirillum* independente da dose de nitrogênio.

Em Lavras, os tratamentos, quando comparados pelo teste de Scott-Knott, se dividiram em três grupamentos, com destaque para o tratamento 100% N + Ab-V5, que apresentou produtividade superior à do uso de 100% do adubo nitrogenado em 900 kg.ha⁻¹.

Em Rio Paranaíba, foi também possível perceber a existência de boa variabilidade entre os tratamentos para a característica avaliada. Houve a formação de três grupamentos, sendo que nos tratamentos onde houve a aplicação do *Azospirillum* a produtividade foi superior apenas no tratamento 100% N + Ab-

V5, confirmando os resultados encontrados em Patos de Minas e em Lavras.

Em Lambari, foram observadas as menores produtividades, devido ao maior período de estiagem durante a condução do ensaio, e manteve-se a tendência dos demais ensaios, com a formação de quatro grupamentos, com superioridade produtiva dos tratamentos com Azos[®], com destaque para a o tratamento 100% N + Ab-V5, que apresentou um acréscimo de 1.140 kg.ha⁻¹. É importante salientar que, em todos os quatro locais avaliados, observou-se significativa diferença de produtividade quando a adubação de 100% de N era utilizada e também o Ab-V5, em comparação com o tratamento que continha somente a quantidade de 100% de N, isto é, houve aumento de 12,57%, 17,21%, 19,57% e 19,42% em Patos de Minas, Lavras, Rio Paranaíba e Lambari, respectivamente.

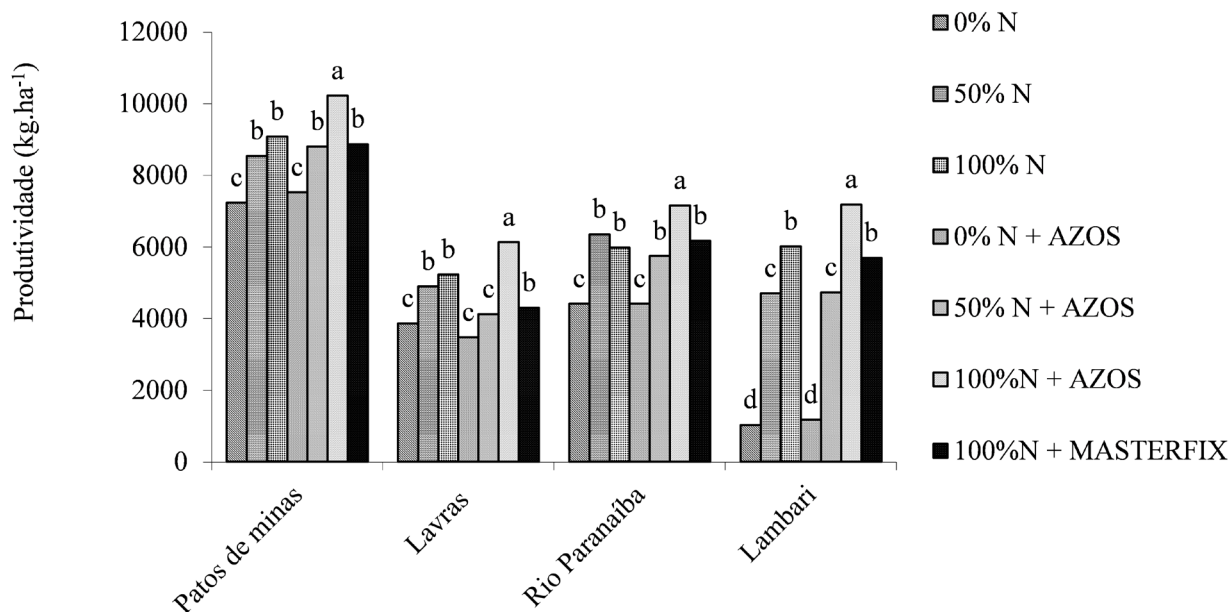


Figura 1. Médias ⁽¹⁾ da produtividade de grãos, em quilos por hectare de milho, por tratamento, avaliados em Patos de Minas, Lavras, Rio Paranaíba e Lambari, MG, na safra 2012/2013.

(1) Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

A análise de variância conjunta apresentou resultados significativos para os seguintes fatores de variação: ambientes, tratamentos e interação ambiente x tratamentos. O ensaio conduzido em Patos de Minas apresentou maior produtividade, seguido por Rio Paranaíba. Os dois ensaios conduzidos nas cidades do Sul de Minas não apresentaram diferença estatística para produção entre elas (Figura 2). Estes resultados demonstram que o híbrido utilizado não influenciou na produtividade obtida, mas sim as condições edafoclimáticas, entre elas a estiagem que, nesta safra, foi maior nas cidades de Lavras e Lambari.

Na análise conjunta, houve a formação de quatro grupamentos quando os tratamentos foram comparados (Figura 3), destacando-se o tratamento 100% N + Ab-V5, que apresentou produtividade superior ao uso de 100% do adubo nitrogenado em $1.080 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Mantendo-se o que foi observado nas análises individuais.

Nos primeiros estudos realizados com o objetivo de compreender as associações entre plantas e *Azospirillum spp.*, esperava-se que os benefícios obtidos fossem essencialmente derivados da fixação biológica de nitrogênio (Dobbelaere et al., 2001). Mas parece que os efeitos positivos proporcionados por estes microrganismos são, principalmente, derivados das alterações morfológicas e fisiológicas nas raízes das plantas inoculadas, acarretando um incremento na absorção de água e nutrientes (Okon & Vanderleyden, 1997). Costa et al. (2015), em um experimento com diferentes formas de aplicações de *Azospirillum* e doses de nitrogênio, observaram maior crescimento em altura (9,5% e 16%), biomassa seca do colmo (49% e 6,75%) e biomassa seca da raiz (123% e 9%), respectivamente para inoculante na semente e pulverizado, em comparação ao tratamento não inoculado. Provavelmente, esta seja a razão para que a produtividade

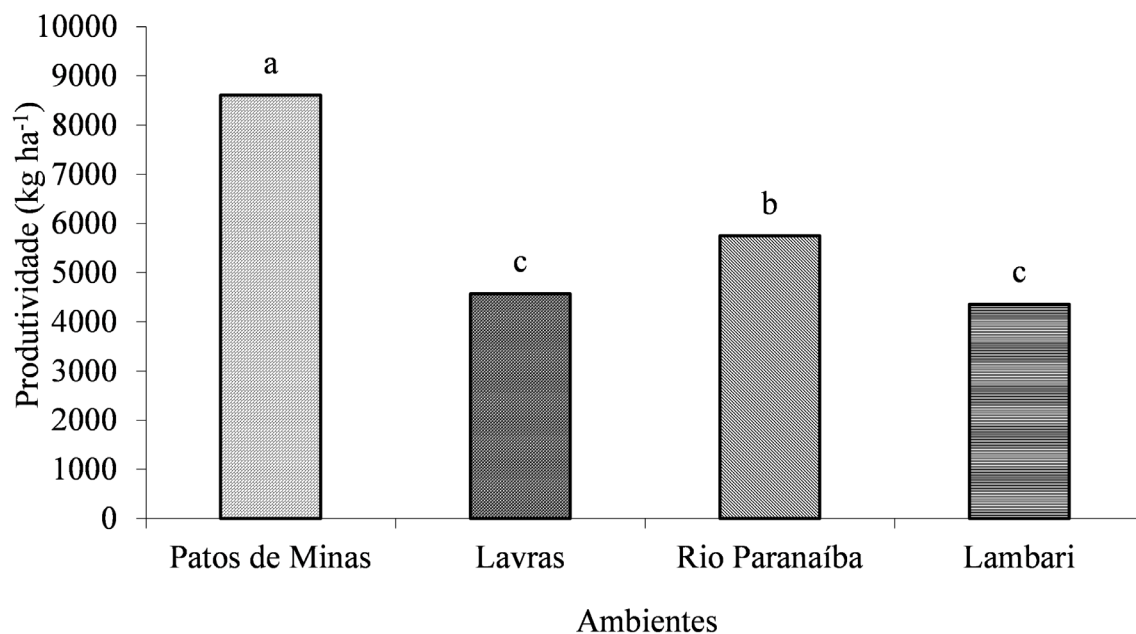


Figura 2. Médias ⁽¹⁾ da produtividade de grãos, em quilos por hectare de milho, avaliados em Patos de Minas, Lavras, Rio Paranaíba e Lambari, MG, na safra 2012/2013.

(1) Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

tenha sido tão alta, mesmo em condições de sequeiro. No caso da bactéria *Azospirillum brasilense* isolado AbV-5, esta foi pulverizada em parte aérea e não tem sua ação no solo como as bactérias diazotróficas simbiotes.

Em uma revisão recente de trabalhos sobre as respostas fisiológicas induzidas por *Azospirillum*, Barassi et al. (2008) relataram a 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, maior altura de plantas. Bashan et al. (2006) relataram incremento em vários pigmentos fotossintéticos, tais como clorofila a, b e pigmentos fotoprotetivos auxiliares, como violaxantina, zeaxantina, aeroxantina, luteína, neoxantina e beta-caroteno, que resultaram

em plantas mais verdes e mais resistentes ao estresse hídrico. Estes trabalhos suportam tecnicamente os resultados práticos obtidos neste estudo.

Provavelmente a grande contribuição do *Azospirillum* para as plantas são os metabólitos que a bactéria produz. Ao fazer uma análise de fitohormônios do produto Azos em um laboratório no Brasil e outros Estados Unidos, por modernas técnicas de cromatografia, foram encontrados níveis de ácido indol acético que variaram de 4,7 ppm a 6,3 ppm. Este resultado corrobora com aqueles encontrados por Pedrinho et al. (2010) que, ao avaliarem as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *Azospirillum* na planta de milho, observaram que este microrganismo possui potencial para ser utilizado como rizobactéria promotora de crescimento em plantas, devido a alta produção deste ácido.

Este fitohormônio produzido por Ab-V5 promove o crescimento radicular, favorecendo maior

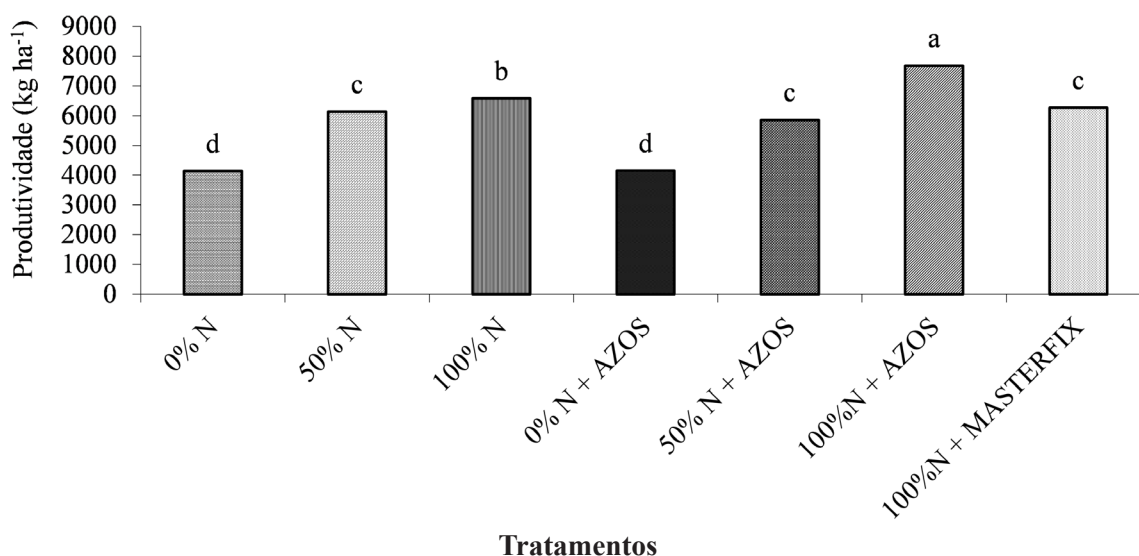


Figura 3. Médias ⁽¹⁾ da produtividade de grãos, em quilos por hectare de milho, em função dos tratamentos considerados, avaliados em Patos de Minas, Lavras, Rio Paranaíba e Lambari, MG, na safra 2012/2013.

(1) Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

absorção de nutrientes e água. Quadros et al. (2014) concluíram que a utilização do *Azospirillum* aplicado na semente estimulou o desenvolvimento das plantas no período vegetativo, aumentando a probabilidade de obter-se um estande de plantas uniforme, maior resistência ao estresse e maior concentração de clorofila nas folhas. Não seria tão importante uma associação bactéria / planta, mas sim exsudatos radiculares / bactéria e metabólitos / planta que são passíveis de serem absorvidos pelas folhas, demonstrando a eficiência da aplicação foliar.

Conclusão

Os resultados dos experimentos em campo demonstraram que a aplicação foliar do Ab-V5 (*Azospirillum brasilense*, produto comercial AZOS®) proporcionou significativo incremento de produtividade quando a dose de 100% de N era também utilizada. Esta bactéria pode ser indicada como uma tecnologia complementar e direcionada para aumento da produtividade do milho provavelmente devido a metabólitos produzidos.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pelo apoio financeiro e pelas bolsas concedidas, e ao Laboratório de Bio Controle Farroupilha SA, pelo auxílio na condução dos ensaios.

Referências

ALVES, V. M. C.; VASCONCELLOS, C. A.; FREIRE, F. M.; PITTA, G. V. E.; FRAÇA, G. E.; RODRIGUES FILHO, A.; ARAÚJO, J. M.; VEIRA, J. R.; LOUREIRO, J.

E. Milho. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H. (Ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**: 5a. aproximação. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. p. 314-316.

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. (Ed.). *Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 49-59.

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

BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J. J.; LEYVA, L. A.; HERNANDEZ, J.-P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, Berlim, v. 42, n. 4, p. 279-285, 2006. DOI: 10.1007/s00374-005-0025-x.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº 294, de 14 de outubro de 1998. Dispõe sobre a Lei de proteção de cultivares. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 16 out. 1998. Seção 1, p. 62.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira**: grãos: safra 2014/15, décimo primeiro levantamento. Brasília, 2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_08_18_10_30_18_boletim_graos_agosto_2015.pdf>. Acesso em: 22 nov. 2015.

COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. da S. F.; NAVES, D. C. de F.; SANTOS, C. B.; ROCHA, A. F. de S. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of second-harvest maize. **Pesquisa Agropecuária**

- Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 304-311, jul./set. 2015. DOI: 10.1590/1983-40632015v45i3a593.
- CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; ALVARENGA, R. C.; GONTIJO NETO, M. M.; VIANA, J. H. M.; OLIVEIRA, M. F. de; SANTANA, D. P. **Manejo da cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 12 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 87).
- DAVISON, J. Plant beneficial bacteria. **Nature Biotechnology**, New York, v. 6, n. 3, p. 282-286, 1988. DOI: 10.1038/nbt0388-282.
- DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; DUTTO, P.; LABANDERA-GONZALEZ, C.; CABALLERO-MELLADO, J.; AGUIRRE, J. F.; KAPULNIK, Y.; BRENER, S.; BURDMAN, S.; KADOURI, D.; SARIG, S.; OKON, Y. Response of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 28, p. 871-879, 2001. DOI: 10.1071/PP01074.
- DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F. O. **Nitrogen fixing bacteria in non leguminous crop plants**. New York: Springer Verlag, 1987. 155 p.
- FANCELLI, A. L. Milho: ambiente e produtividade. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. (Ed.). **Milho: estratégias de manejo para alta produtividade**. Piracicaba: ESALQ, 2003. p. 174-197.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar**: sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.1 Build 72. Lavras: UFLA, 2007.
- GARCÍA-OLIVARES, J. G.; MORENO-MEDINA, V. R.; RODRÍGUEZ-LUNA, I. C.; MENDOZA-HERRERA, A.; MAYEK-PÉREZ, N. Efecto de cepas de *Azospirillum brasilense* en el crecimiento y rendimiento de grano del maíz. **Revista Fitotecnia Mexicana**, Chapingo, v. 30, n. 3, p. 305-310, 2007.
- HUERGO, L. F.; MONTEIRO, R. A.; BONATO, A. C.; RIGO, L. U.; STEFFENS, M. B. R.; CRUZ, L. M.; CHUBATSU, L. S.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.). ***Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 17-35.
- KLOEPPER, J. W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R. M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 7, n. 2, p. 39-43, 1989. DOI: 10.1016/0167-7799(89)90057-7.
- LERAYER, A. **Guia do milho: tecnologia do campo a mesa**. São Paulo: Conselho de Informações sobre Biotecnologia, 2006. 15 p.
- MARTINS, F. A. D.; ANDRADE, A. T.; CONDÉ, A. B. T.; GODINHO, D. B.; CAIXETA, C. G.; COSTA, R. L.; POMELA, A. W. V.; SOARES, C. M. S. Avaliação de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 18, n. 2, p. 113-128, 2012.
- OHLAND, R. A. A.; SOUZA, L. C. F.; HERNANI, L. C.; MARCHETTI, M. E.; GONÇALVES, M. C. Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 538-544, 2005. DOI: 10.1590/S1413-70542005000300005.
- OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **ASM News**, v. 63, p. 364-370, 1997.
- PEDRINHO, E. A. N.; GALDIANO JÚNIOR, R. F.; CAMPANHARO, J. C.; ALVES, L. M. C.; LEMOS, E. G. de M. Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 4, p. 905-911, 2010. DOI: 10.1590/S0006-87052010000400017.
- QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, MG,

v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.

DOI: 10.1590/S0034-737X2014000200008.

REIS, V. M.; PEDRAZA, R. O.; TEIXEIRA, K. R. dos S. **O gênero *Azospirillum*: diversidade e relação filogenética das espécies**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2010. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 273).

REIS JÚNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, K. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 3, p. 1139-1146, 2008.

DOI: 10.1590/S0100-06832008000300022.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. Cluster analyses method for means in the analyses of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974.

SWĘDRZYŃSKA, D.; SAWICKA, A. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on development and yielding of maize (*Zea mays* ssp. *Saccharata* L.) under different cultivation conditions. **Polish Journal of Environmental Studies**, Olsztyn, v. 9, n. 6, p. 505-509, 2000.

TARRANT, J. J.; KRIEG, N. R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov., and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 24, n. 8, p. 967-980, 1978.
DOI: 10.1139/m78-160.