



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS – UFT
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE

BACTÉRIA *Azospirillum brasilense* E SEUS EFEITOS NA EFICIÊNCIA
DA ADUBAÇÃO NITROGENADA, EM CULTIVARES
CONVENCIONAIS DE MILHO VERDE

VANDERLAN CARNEIRO DIAS
Engº. Agrº. Mestre em Agroenergia

Palmas – TO
2021

VANDERLAN CARNEIRO DIAS

**BACTÉRIA *Azospirillum brasilense* E SEUS EFEITOS NA EFICIÊNCIA
DA ADUBAÇÃO NITROGENADA, EM CULTIVARES
CONVENCIONAIS DE MILHO VERDE**

Tese de doutorado apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Tocantins - UFT, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Biodiversidade e Conservação ou Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Joênes Mucci Peluzio

Coorientador: Prof. Dr. Flávio Sérgio Afférri

Palmas – TO

Outubro/2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

D541b DIAS, Vanderlan Carneiro Dias.
BACTÉRIA *Azospirillum* Brasilense E SEUS EFEITOS NA EFICIÊNCIA DA ADUBAÇÃO NITROGENADA, EM CULTIVARES CONVENCIONAIS DE MILHO VERDE. / Vanderlan Carneiro Dias DIAS. – Palmas, TO, 2021.

100 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Doutorado) em Biodiversidade e Biotecnologia, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Joênes Mucci Peluzio

Coorientador: Prof. Dr. Flávio Sérgio Affêrri

1. CAPITULO I: Resposta de cultivares de milho, quanto a eficiência no uso de nitrogênio, associado a *Azospirillum* brasilense. 2. CAPITULO II: Interação cultivar x ambiente na produtividade de espigas verdes em milho inoculado com *Azospirillum* brasilense, em baixa latitude. 3. CAPITULO III: Análise de trilha entre características de milho verde inoculado com *Azospirillum* brasilense, sob diferentes doses de nitrogênio. 4. CAPITULO IV: Divergência genética entre cultivares de milho com e sem a bactéria *Azospirillum* brasilense, associada a baixo e alto N, visando milho verde. I. Título

CDD 660.6

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

VANDERLAN CARNEIRO DIAS

**BACTÉRIA *Azospirillum brasilense* E SEUS EFEITOS NA EFICIÊNCIA
DA ADUBAÇÃO NITROGENADA, EM CULTIVARES
CONVENCIONAIS DE MILHO VERDE**

Tese de doutorado apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Tocantins - UFT, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Biodiversidade e Conservação ou Biotecnologia.

Tese Aprovada em, 06 /10 /2021.

Banca Examinadora



Prof. Dr. Joênes Mucci Peluzio - Orientador, UFT

Documento assinado digitalmente

gov.br

Emerson Adriano Guarda

Data: 08/10/2021 14:23:15-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. En

or, UFT



Prof. Dr. Ildon Rodrigues do Nascimento - Examinador, UFT

raphael sanzio
pimenta

Assinado de forma digital
por raphael sanzio pimenta
Dados: 2021.10.08 07:15:32
-03'00'

Prof. Dr. Raphael Sanzio Pimenta - Examinador, UFT



Prof. Dr. Rodrigo Ribeiro Fidelis - Examinador, UFT

DEDICATÓRIA

À minha esposa Claudia, e aos meus filhos Mariana e João Marcos, por sempre estarem comigo nessas jornadas, apoiando, dando força, e me compreendendo, para que eu pudesse superar cada momento das dificuldades vivenciadas e continuar firme neste tão sonhado título de Doutor, pois estas pessoas foram à razão, para que eu pudesse prosseguir e concluir a nossa conquista.

*Sobre a Proteção de Deus,
Dedico!.*

AGRADECIMENTOS

Início agradecendo ao Supremo Deus, com amor e gratidão, por ter me guiado com sabedoria e conduzido a minha trajetória de vida com a participação de pessoas especiais, que foram à razão dessa conquista, ***“Tudo no Tempo de Deus”***.

Agradeço o amor da família em nome dos meus pais: Valdemir e Alzina, e todos os meus parentes paternos e maternos: os bisavós e, os avós (*in memoriam*), a vovó Emiliania (matriarca), o irmão, as irmãs, os tios, as tias, os padrinhos, as madrinhas, os cunhados, as cunhadas, os primos, as primas, os sobrinhos, as sobrinhas, e a todos que de forma direta e indireta me deram forças para seguir em frente.

Agradeço em especial a minha mãe por ter acreditado em mim, e pelos ensinamentos de base, de uma educação com dignidade, sendo pra mim o suporte para superar e vencer os desafios da vida com a cabeça erguida e determinação.

Agradeço carinhosamente pelo o amor da minha esposa Claudia, e meus filhos Mariana e João Marcos, por terem participado de todos os momentos dessa conquista, me dando força nos momentos difíceis, me ajudando a superar a cada etapa. “A família é o bem mais precioso que possuímos”. *Obrigado, por fazerem parte da minha vida!*

Agradeço especialmente com louvor meu orientador prof. Dr. Joênes Mucci Peluzio, pelos ensinamentos, pela sabedoria e humildade para me ensinar, e pela dedicação que teve comigo durante meus estudos, desde a graduação, mestrado e o doutorado.

Agradeço aos professores, Flávio Sérgio Afféri, (primeiro orientador), Maria Dilma de Lima, Emerson Adriano Guarda, Weder Ferreira dos Santos, Rodrigo Ribeiro Fidelis, Ildon Rodrigues do Nascimento, e Raphael Sanzio Pimenta, pelas colaborações nas minhas bancas de defesa de qualificação e da tese.

Agradeço colegas técnicos da UFT, Domingos laboratório de Agroenergia, Evandro Reina, Douglas e demais, sem a ajuda destes amigos, seria difícil desenvolver este projeto.

Agradeço ao Sr. Carlos Alberto de Lima pela doação das estirpes (bactéria *Azospirillum brasilense*), Loja INNOVAR comércio de defensivos agrícolas LTDA - Porto Nacional – TO.

Agradeço a todos os professores e professoras, e servidores do Programa de Pós-Graduação, Doutorado da Rede BIONORTE/UFT, que foram indispensáveis para o meu crescimento, científico e intelectual.

Com solidariedade aos colegas do Doutorado pela amizade e companheirismo que juntos construímos.

Agradeço a todos com Gratidão a Deus!

EPÍGRAFE

Deus nos ama o tempo todo!

Então disse Deus: "Cubra-se a terra de vegetação, plantas que deem sementes e árvores cujos frutos produzam sementes de acordo com as suas espécies", e assim foi cumprida a profecia Divina.

Gênesis 1:11

Desejo que você, não tenha medo da vida, tenha medo de não vivê-la. Não há céu sem tempestades, nem caminhos sem acidentes. Só é digno do pódio quem usa as derrotas para alcançá-lo. Só é digno da sabedoria quem usa as lágrimas para irrigá-la. Os frágeis usam a força; os fortes a inteligência. Seja um sonhador, mas busque seus sonhos com disciplina e solidariedade. Seja um debatedor de ideias. Lute pelo que você ama.

Augusto Cury.

DIAS, Vanderlan Carneiro. **Bactéria *Azospirillum brasilense* e seus efeitos na eficiência da adubação nitrogenada, em cultivares convencionais de milho verde 2021**. 100f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia). Universidade Federal do Tocantins – UFT, Palmas – TO, 2021.

RESUMO

O cultivo do milho-verde (*Zea Mays* L.) é de suma importância alimentar e a sua atividade é praticada por pequenos e médios produtores gerando renda na agricultura familiar. A busca de alternativas conservacionistas fazendo uso de *Azospirillum brasilense*, tem sido uma alternativa, e barata. O trabalho estudou cultivares convencionais de milho (*Zea mays* L.), com *A. brasilense*, e doses N, para produtividade milho-verde. Foi feito dois ensaios experimentais (04/12/2019 e 10/12/2020) respectivamente, na UFT, Palmas -TO. D.E. foi de blocos casualizados, com três repetições, em parcelas subsubdivididas, onde nas parcelas os tratamentos envolvendo inoculação das sementes com *Azospirillum* (C Az) e sem (S Az). Nas subparcelas as doses de N (00, 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹) e nas subsub parcelas oito cultivares de milho. A tese foi dividida em quatro capítulos: Cap. 1 foi estudado a eficiência e resposta dos cultivares de milho, quanto ao uso de N, para os processos (C Az e S Az). O Az. nas sementes promoveu alterações na eficiência e resposta dos cultivares quanto ao uso do nitrogênio. Os cultivares eficientes ao N, com Az, foram BM-3061, BRS-2022 e AG-1051. O BRS-3046 se destacou sendo eficiente e responsivo. Cap. 2, cada processo (C Az e S Az), foi realizado estudo de adaptabilidade e estabilidade (EBERHART & RUSSELL 1966) e estratificação ambiental (LIN, 1982), cada dose N, em cada ensaio e cada processo (C Az e S Az) representou um ambiente distinto. Houve resposta diferencial dos cultivares entre os processos com e sem Az. a bactéria resultou num acréscimo na produtividade milho-verde. O BRS-3046 e AG-1051 tiveram ampla adaptação aos ambientes. Cap. 3 foram estimados os coeficientes de correlação (*r*) entre as características com (PREV) para (S Az) e (C Az), em baixo N (30 kg ha⁻¹ N) e em alto N (120 kg ha⁻¹ N). Houve efeito da adubação nitrogenada e da Az. na magnitude dos efeitos diretos e indiretos das características sobre PREV. A seleção de AP em alto N, com C Az e S Az, e em baixo N, S Az, aumentou PREV. Em baixo N, sem Az. o PR, poderia ser utilizado para incrementos PREV. Cap. 4, cada proc. (C Az e S Az), em BN e AN, realizou o estudo da divergência genética entre os cultivares. Foram utilizadas seis características: AP, CR, LR, PR, CED, DED, e PREV. Em cada proc. (S Az) e (C Az), em BN e em AN, foi utilizada a (D2) como medida de dissimilaridade e, o agrupamento de Tocher, e Singh para quantificar a contribuição relativa das características. O Az. e as doses de N

influenciaram na expressão da variabilidade genética. Os BM 3061, em alto N, e AG 1051, em baixo N, foram os mais divergentes em ambos os processos de inoculação. A característica PREV, poderá ser útil para novos estudos, e seleção de genótipos contrastantes.

Palavras-chave: *Zea mays*; Agricultura familiar; Segurança alimentar; Fixação natural; Nitrogênio.

DIAS, Vanderlan Carneiro. **Bactéria *Azospirillum brasilense* e seus efeitos na eficiência da adubação nitrogenada, em cultivares convencionais de milho verde 2021**. 100f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia). Universidade Federal do Tocantins – UFT, Palmas – TO, 2021.

ABSTRACT

The cultivation of green corn (*Zea Mays* L.) is of paramount food importance and its activity is practiced by small and medium producers, generating income in family farming. The search for conservation alternatives using *Azospirillum brasilense* has been an alternative and cheap. The work studied conventional maize cultivars (*Zea mays* L.), with *A. brasilense*, and N rates, for green maize yield. Two experimental tests were carried out (12/04/2019 and 12/10/202) respectively, at UFT, Palmas -TO. Experimental design was randomized blocks, with three replications, in sub-divided plots, where in the plots the treatments involving seed inoculation with *Azospirillum* (C Az) and without (S Az). In the sub-plots the doses of N (00, 30, 60, 90 and 120 kg ha⁻¹) and in the sub-plots eight maize cultivars. The thesis was divided into four chapters: Chapter 1 was studied the efficiency and response of corn cultivars, regarding the use of N, for the processes (C Az and S Az). Az. in seeds promoted changes in the efficiency and response of cultivars to nitrogen use. The N-efficient cultivars with Az were BM-3061, BRS-2022 and AG-1051. The BRS-3046 stood out for being efficient and responsive. Chapter 2, each process (C Az and S Az), a study of adaptability and stability (EBERHART & RUSSELL 1966) and environmental stratification (LIN, 1982), each N dose, in each trial and each process (C Az and S Az) represented a distinct environment. There was a differential response of cultivars between the processes with and without Az. The bacterium resulted in an increase in green corn yield. The BRS-3046 and AG-1051 had extensive adaptation to environments. Chapter 3, correlation coefficients (r) between traits were estimated with (PREV) for (S Az) and (C Az), at low N (30 kg ha⁻¹ N) and at high N (120 kg ha⁻¹ N). There was an effect of nitrogen and Az. fertilization on the magnitude of the direct and indirect effects of the characteristics on PREV. The selection of AP in high N, with C Az and S Az, and in low N, S Az, increased PREV. At low N, without Az, the PR could be used for PREV increments. Chapter 4, each proc. (C Az and S Az), in BN and AN, carried out the study of genetic divergence between cultivars. Six characteristics were used: AP, CR, LR, PR, CED, DED, and PREV. In each proc. (S Az) and (C Az), in BN and AN, the (D2) was used as a dissimilarity measure, and the Tocher and Singh grouping was used to quantify the relative contribution of the characteristics. Az. and N doses influenced the expression of genetic

variability. BM 3061, in high N, and AG 1051, in low N, were the most divergent in both inoculation processes. The PREV feature may be useful for further studies and selection of contrasting genotypes.

Keywords: *Zea mays*; Family farming; Food safety; Natural fixation; Nitrogen.

SUMÁRIO

Resumo	viii
Sumário	xii
1 INTRODUÇÃO GERAL	14
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral.....	16
2.2 Objetivos Específicos.....	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 Histórico do milho e sua importância.....	15
3.2 Nitrogênio.....	17
3.3 Gênero <i>Azospirillum</i>	18
3.4 Adaptabilidade, estabilidade e estratificação ambiental.....	20
3.5 Análise de trilha.....	21
3.6 Divergência genética.....	22
 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 22
 CAPITULO I	 28
Resposta de cultivares de milho, quanto a eficiência no uso de nitrogênio, associado a <i>Azospirillum brasilense</i>	28
RESUMO.....	28
1 INTRODUÇÃO.....	29
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4 CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS.....	38
 CAPITULO II	 42
Interação cultivar x ambiente na produtividade de espigas verdes em milho inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i>, em baixa latitude	42
RESUMO.....	42
1 INTRODUÇÃO.....	43
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4 CONCLUSÃO.....	53

REFERÊNCIAS	53
CAPITULO III.....	56
Análise de trilha entre características de milho verde inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i>, sob diferentes doses de nitrogênio.....	56
RESUMO.....	56
1 INTRODUÇÃO.....	57
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	59
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
4 CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS.....	67
CAPITULO IV	71
Divergência genética entre cultivares de milho com e sem a bactéria <i>Azospirillum brasilense</i>, associada a baixo e alto N, visando milho verde.....	71
RESUMO.....	71
1 INTRODUÇÃO.....	72
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	73
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	75
4 CONCLUSÃO.....	80
REFERÊNCIAS.....	80
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82

1 INTRODUÇÃO GERAL

O milho (*Zea mays* L.) é uma cultura mundial com elevada importância econômica e social por suas diversas formas de utilização, extensão de área cultivada (191 milhões de ha⁻¹) e capacidade produtiva. Nas últimas décadas, se tornou o cereal mais cultivado no mundo com produção estimada em mais de 1 bilhão de toneladas (1,123 bilhão t), com crescimento de 82%, no volume de produção em período de 20 anos (2000 a 2020) deixando para trás antigos concorrentes, como o arroz e o trigo (USDA, 2021; CONAB, 2021).

No Brasil é comum a exploração de milho para produção de grãos e também para milho-verde, cujas espigas são utilizadas para produção de pamonha, curau, bolos, suco e outros (PEREIRA FILHO et al., 2003). O cultivo de milho-verde é uma atividade lucrativa que é realizada principalmente por pequenos e médios produtores gerando renda nessas pequenas propriedades (MATOS, 2007; ROCHA et al., 2008).

A produtividade de milho-verde nas pequenas e médias propriedades é dependente do nível tecnológico adotado. Nesse cenário, a deficiência do nitrogênio é um dos fatores que mais afetam a produtividade do milho-verde em solos tropicais (SANTOS, 2014), sendo primordial a obtenção de genótipos com maior eficiência ao uso do N (EUN), que aliado as alternativas conservacionistas como uso de bactérias do gênero *Azospirillum brasilense*, que são capazes de fornecer N para as plantas (HUNGRIA, 2011), reduzindo os gastos com insumos e danos ao meio ambiente (MEGDA et al., 2009; BERTASELLO et al., 2021).

A interação Cultivar x Ambiente (C x A) exerce uma forte influência sobre o desempenho dos genótipos, dificultando a seleção de novas cultivares (BORNHOFEN et al., 2017). Segundo Carvalho et al. (2013) a escolha dos métodos de adaptabilidade e estabilidade a serem utilizados dependem dos dados experimentais, do número de ambientes, e da precisão experimental exigida e por fim, o tipo de informação desejada. Dentre os métodos utilizados, citam-se o método de EBERHART & RUSSELL (1966), o de LIN (1982) e, CRUZ & CASTOLDI (1991). Cruz & Regazzi (2007) realizaram estudos no sentido de identificação de genótipos com ampla adaptabilidade e estabilidade em busca de ambientes similares, que possa atenuar o efeito da interação (C x A).

A produtividade de milho-verde é um caráter complexo, ou seja, influenciado por várias características tais como: o peso médio de espiga, o comprimento médio das espigas, o diâmetro médio das espigas, o comprimento do grão, e outras, de modo que a identificação de características de produção que apresentem maior contribuição sobre a produtividade de

espigas comerciais é importante e pode auxiliar na seleção de genótipos superiores de interesse econômico (ENTRINGER et al., 2014). Assim, o uso da análise de trilha tem sido realizado em estudos com culturais anuais em busca do conhecimento das correlações fenotípicas, genotípicas, ambientais e a inter-relação entre características, sendo importante para futuros programas de melhoramento (CRUZ, CARNEIRO & REGAZZI, 2014).

A identificação da diversidade genética no germoplasma de um programa de melhoramento auxilia na definição das estratégias que serão adotadas, pois é por meio da divergência genética entre os genótipos, que se é possível realizar as melhores combinações na etapa de hibridações (MARDEGAN, 2014).

O conhecimento da divergência genética fornece parâmetros para escolha de genótipos que, ao serem cruzados, aumentam as chances de obtenção de cultivares superiores em gerações segregantes (PAIXÃO et al., 2008; ROTILI et al., 2012). No estudo da diversidade genética de uma população de milho, são utilizadas características morfoagronômicas, fazendo uso das diversas medidas de dissimilaridade por meio do método da distância generalizada de Mahalanobis (D₂), (SIMON et al., 2012), o método de agrupamento de Tocher e o critério de Singh (1981) para quantificar a contribuição relativa dessas características para a divergência genética.

Neste contexto, em virtude da escassez de estudos retratando os efeitos das bactérias *Azospirillum brasilense* no cultivo de milho-verde, foram conduzidos dois ensaios, experimentais, em duas safras agrícolas (2019/20 e 2020/21), resultando nos seguintes estudos distribuídos em quatro capítulos, quais sejam: 1- capítulo primeiro: realizado com o objetivo de comparar a eficiência e resposta de cultivares comerciais de milho para produção de espigas verdes quanto ao uso do nitrogênio, com e sem aplicação da bactéria *Azospirillum brasilense* nas sementes (capítulo já publicado, ver anexo 1); 2- capítulo segundo: realizado com o objetivo estudar o desempenho de cultivares de milho, na presença e ausência da bactéria *Azospirillum brasilense*, sob diferentes doses de nitrogênio, visando a produtividade de espigas verdes em cultivo sob baixa latitude (capítulo já publicado, ver anexo 2); 3- capítulo terceiro: realizado visando estudar análise de trilha nas características morfoagronômicas, em sementes inoculadas ou não com *Azospirillum brasilense*, em diferentes doses de nitrogênio, em cultivo sob baixa latitude; e 4- capítulo quarto: realizado com o intuito de avaliar a divergência genética em cultivares milho, com e sem a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, sob alto e baixo N, para a produtividade de espigas verdes, no cerrado Tocantinense.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar cultivares convencionais de milho (*Zea mays* L.), sob o efeito ou não da inoculação com a bactéria *Azospirillum brasilense*, associada a adubação nitrogenada, para produção de milho-verde, em condições do cerrado, em Palmas – TO.

2.2 Objetivos Específicos

Comparar a eficiência e resposta de cultivares comerciais de milho para produção de milho-verde quanto ao uso do nitrogênio, com e sem aplicação da bactéria *Azospirillum brasilense* nas sementes;

Estudar o desempenho de cultivares de milho, na presença e ausência da bactéria *Azospirillum brasilense*, sob diferentes doses de nitrogênio, visando a produtividade de espigas verdes em cultivo sob baixa latitude;

Estratificar por análise de trilha com características morfoagronômicas de cultivares de milho, na presença ou não de inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, em condição de baixo e alto N.

Avaliar a divergência genética entre cultivares milho, com e sem a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, em condição de alto e baixo N.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Histórico do milho e sua importância

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie que pertence à família Gramineae/Poaceae, a pesquisa revela que a história do milho começa com seu ancestral selvagem chamado “teosinto” (ILTIS & DOEBLEY, 1980), dando origem a planta de milho primitivo e cujos primeiros registros ocorreram há mais de 9.000 anos, quando ainda possuíam espigas menores que 3 cm. Posteriormente, através da domesticação da espécie por seleção e cruzamentos, o tamanho das espigas do milho moderno convencional, atualmente é de aproximadamente 45 cm. Foi um cereal importante para a sobrevivência dos povos antigos, com registro desde as civilizações mexicanas, através das suas antigas culturas, até a tradicional cultura das civilizações mais recentes nas comunidades indígenas e hoje agricultura moderna (VILAR, 2016; DONEL, 2019).

Esse cereal tem alto potencial produtivo, e possui elevado valor nutricional (72% amido, 9,5% proteína, 9% fibra e 4% óleo). Cerca de 15% de toda produção mundial de milho é utilizada no setor alimentício para o consumo humano e o restante é destinado para fabricação de rações para animais (70 a 85%), e/ou para indústria, de alta tecnologia sendo usado na obtenção de biocombustíveis, filmes e embalagens biodegradáveis e etc. (PAES, 2006; DIAS, 2016).

A exploração do milho para produção de milho-verde é uma das atividades agrícolas mais importantes do Brasil, especialmente para o Nordeste. As espigas são colhidas com os grãos imaturos com teor de umidade entre 70% e 80%. Este produto é apreciado em todo o país, sendo consumido *in natura* ou sob a forma de diversos pratos, ou ainda industrializado e comercializado sob a forma de milho-verde enlatado (DOVALE et al., 2011).

Embora os números relativos à produção de milho-verde sejam mais modestos do que os relativos à produção de grãos, a importância do milho-verde é devido ser colhido na sua forma de espigas verdes, estando os grãos nos estádios leitoso e/ou pastoso, o que demanda maiores cuidados na colheita (VIEIRA, 2007).

O cultivo do milho-verde no Brasil cresce a cada ano principalmente na agricultura familiar, devido ao valor agregado ao produto *in natura* e seus derivados (VIEIRA, 2007). Na região Nordeste do país, o cultivo de milho-verde ocorre durante todo o ano, fazendo parte das festas típicas da região (PEREIRA FILHO, 2003; ROCHA et al., 2008).

Ainda são poucos os cultivares específicas para produção de milho-verde disponível no mercado. Na avaliação dos rendimentos desses produtos são utilizados, frequentemente, cultivares desenvolvidas para a produção de grãos. Todavia, possivelmente, há dentre os cultivares desenvolvidos para produção de grãos aqueles mais aptos para produção de milho-verde (DOVALE et al., 2011).

Neste contexto, o trabalho foi realizado utilizando na sua grande maioria, os híbridos simples, híbridos duplos, híbridos triplos e uma variedade de polinização aberta, todos adquiridos nos comércios local da região.

3.2 Nitrogênio

O nitrogênio (N) é o macronutriente mineral que exerce maior influência na produtividade de grãos, e um dos nutrientes que mais onera o custo de produção (SILVA et al., 2005). Além disso, na cultura do milho o N é fundamental para o estabelecimento e

duração da área foliar, na formação das espigas, na formação da fonte produtora de fotoassimilados (RAMBO et al., 2007), no aumento nos teores de proteínas (MALAVOLTA, 2006).

O N, do adubo, como se sabe, tem os seguintes destinos: absorção e exportação (em parte) pelas culturas, perda por carreamento superficial, lixiviação no solo, perda por volatilização (como amônia ou como N₂ ou óxido de nitrogênio no caso de desnitrificação); e as quantidades relativas variam muito. A utilização desse nutriente em doses elevadas causa consumo excessivo de nutrientes pelas plantas e aumenta a disponibilidade dos elementos no sistema solo-água, levando a desequilíbrios no ambiente (EMBRAPA, 2006).

O N é um dos nutrientes, que mais influenciam na produtividade de grãos de milho por fazer parte de várias moléculas da fisiologia e desenvolvimento da planta, especialmente proteínas, enzimas e aminoácidos (COELHO, 2007). A deficiência de N, pode reduzir de 10 a 25% o rendimento da lavoura de milho (SUBEDI et al., 2009), sendo essa deficiência nos solos tropicais está associada, as perdas por lixiviação e volatilização (MÜLLER, 2016; SILVA, 2019).

No geral, recomenda-se para a cultura do milho a aplicação de 40 kg ha⁻¹ a 50 kg ha⁻¹ de N, no plantio e o restante em cobertura, na fase de 3 a 8 folhas verdadeiras até somar aproximadamente de 120 kg ha⁻¹ a 150 kg ha⁻¹ (YAMADA & ABDALLA, 2000). Já para altas produtividades, em lavouras acima de 8t ha⁻¹, é recomendada doses acima de 140 kg ha⁻¹ de nitrogênio (YAMADA et al., 1996). Segundo Schiavinatti et al. (2011) é o nutriente que permite maiores produtividades na cultura do milho, e exige em média de 25kg de N, para cada tonelada produzida.

Nessa lógica são inúmeros os trabalhos que corroboram com a adubação nitrogenada sobre a produtividade de espigas verdes no cultivo do milho. Silva et al. (2000) encontraram produtividade máxima de 11,7 t ha⁻¹ de espigas verdes comerciais com palha com a aplicação de 151 kg ha⁻¹ de N. Com adubação nitrogenada de 120 kg parcelada aos 25 e 45 dias, Silva & Silva (2003) obtiveram produtividade de 10,9 t ha⁻¹ de espigas empalhadas. Por sua vez, produtividade mais elevada, da ordem de 21,4 t ha⁻¹ de espigas verdes com palha, foi obtida por Cardoso et al. (2010), com a aplicação de 160 kg ha⁻¹ de N.

3.3 Gênero *Azospirillum*

O gênero *Rhizobium*, foi uma das primeiras descobertas dessas bactérias, e ainda representam o grupo mais estudado. É neste grupo onde estão incluídos os gêneros *Rhodospirillum* e *Azospirillum* (REIS & TEIXEIRA, 2005). No Brasil a descoberta dessas

bactérias ocorreu a partir de estudos realizados pela EMBRAPA (1970), que observou as bactérias *Azospirillum*, com potencial na Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) em associação com gramíneas (DOBEREINER et al., 1986).

As bactérias promotoras de crescimento de plantas do gênero *Azospirillum* fazem parte de um grupo de microrganismos benéficos para as plantas, através da FBN, e ainda possuem a capacidade de colonizar superfícies radiculares da rizosfera e filosfera (HUNGRIA, 2011), bem como por ser uma bactéria diazotrófica é capaz de atuar na planta estimulando a produção de hormônios como auxina, citocinina e giberelina (BASHAN & DE-BASHAN, 2010), sendo responsáveis pelo crescimento da parte aérea e raízes da cultura (TAIZ & ZEIGER, 2013). Atuam também protegendo as raízes contra organismos patogênicos no microbioma da rizosfera (SOUZA et al., 2019). A simbiose realizada por estas bactérias com gramíneas (FBN), supre apenas parcialmente as necessidades das plantas, sendo necessário o complemento com fontes nitrogenadas (HUNGRIA et al., 2010).

O aumento da produtividade da cultura do milho a partir da inoculação com *Azospirillum* pode variar em função de diversos fatores, destacando-se o clima, o tipo de solo e o cultivar utilizado (FERREIRA et al., 2013; MARINI et al., 2015; BRUSAMARELLO-SANTOS et al., 2017). Já Hungria (2011) observou que o uso de bactérias *Azospirillum*, reduziu a necessidade de aplicação de insumos químicos, diminuindo os estresses bióticos e abióticos, e aumentando a produtividade do milho, beneficiando o meio ambiente.

O uso de inoculantes do gênero *Azospirillum*, promove benefícios na cultura do milho com incrementos na produtividade de grãos, aumento da matéria seca, diâmetro de colmo, altura de inserção de espiga, altura de planta, comprimento de espiga, diâmetro de espiga, massa de 1000 grãos, massa de sabugo, massa de espiga, acúmulo de N na parte aérea, aumento da produtividade e o acúmulo de nitrogênio na planta, e possível aumento da atividade das enzimas fotossintéticas (NOVAKOWISK et al., 2011; DARTORA et al., 2013; QUADROS et al., 2014; CUNHA et al., 2014; MORAIS, 2016; ANDRADE et al., 2016; COELHO et al., 2019).

Barros Neto (2008) relatou que o cultivo de milho em associação com a bactéria *Azospirillum brasilense* resultou em uma redução de até 50 kg ha⁻¹ de nitrogênio. Já Hungria (2011) verificou incremento médio de 24% a 30% no rendimento de grãos de milho quando inoculados com a bactéria *Azospirillum brasilense*. Barros (2019) observou que a dose 117 kg ha⁻¹ de N proporciona aumento de produtividade de espigas verdes, mas a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* não interferiu no rendimento de grãos de milho-verde.

Araújo et al. (2014), observaram que houve aumento significativo no número e na massa das espigas comerciais com a inoculação de *A. brasilense* em relação ao tratamento sem inoculação, pois essa combinação pode aumentar em mais de 30% a produção de espigas de milho-verde. Já Bashan et al. (2004), com uso de *Azospirillum* verificou o desenvolvimento das raízes de milho, incrementos na absorção da água e minerais, que possibilitou numa maior tolerância da planta a estresses como salinidade e seca, tornando-a mais vigorosa e produtiva.

Portugal et al. (2017), relataram que houve associação entre *Azospirillum* e doses de N com incrementos no diâmetro de espigas, mas alerta que quanto a penetração desses seres nas raízes das plantas, não se sabe muito sobre os mecanismos moleculares que controlam essas associações. Já Kappes et al. (2013) observaram a interação positiva entre milho e as bactérias fixadoras de nitrogênio, porém ainda têm obstáculos para o uso desta tecnologia, que necessitam de estudos com maiores detalhes para as condições de campo tais como os fatores interação com a biota, o solo e as condições edafoclimáticas.

Quadros et al. (2014) verificaram efeito da interação entre híbridos e tratamentos sobre a produtividade, indicando que a inoculação pode ser mais eficiente em determinados híbridos ou cultivares, em relação a outros. Observa-se que cada híbrido testado apresentou um resultado diferente com a inoculação, e que dependendo do genótipo do milho, o benefício da inoculação pode ser observado em diferentes partes da planta, como grãos, parte aérea ou colmo.

Diante do exposto, observa-se que doses menores de nitrogênio e uso da bactéria *Azospirillum brasilense* podem resultar na eficiência dos recursos disponíveis com a intensificação da exploração da terra, e considerando que ainda são raras as publicações literárias com trabalhos voltados para aplicação dessa tecnologia na produtividade de milho-verde, propomos o presente trabalho.

3.4 Adaptabilidade, estabilidade e estratificação ambiental

A busca pela identificação de cultivares de milho-verde com adaptabilidade e estabilidade específica aos diferentes ambientes, aliado ao uso de novas tecnologias, tais como as bactérias fixadoras de nitrogênio, poderiam resultar em incrementos nos atuais índices de produtividade, bem como promover uma racionalização no uso dos fertilizantes nitrogenados.

Os programas de melhoramento genético são essenciais para atender a busca constante por maior produtividade, possibilitando através do aumento de variabilidade e base

genética, a seleção dos melhores genótipos de uma determinada população, capazes de superar os patamares de produtividade já existentes (CAPONE et al., 2018).

Em uma série de ambientes representados por anos, locais, épocas de semeadura, diferentes formas de manejo, adubação e outros, pode ocorrer a interação cultivares x ambientes (C x A) que influencia no desempenho dos cultivares, dificultando o processo de seleção daqueles com características superiores (FARIA et al., 2018).

O processo de agrupamento de locais semelhantes tem sido feito ao longo dos últimos cinquenta anos, conforme diferentes abordagens genético-estatísticas. Como alguns dos principais procedimentos de agrupamento de locais baseados na interação genótipos x ambientes, a exemplos dos métodos de Lin (1982) e, (CRUZ & CASTOLDI, 1991). Conhecer o tipo predominante na interação auxilia na tomada de decisão, como por exemplo, o desenvolvimento de genótipos a amplas condições ambientais ou a condições específicas (FELIPE et al., 2010), podendo minimizar o efeito da interação no desempenho dos genótipos (EBERHART & RUSSEL, 1966).

Visando atenuar o efeito desta interação, a identificação e o uso de genótipos com ampla adaptabilidade e estabilidade (CARVALHO et al., 2013) e a identificação de ambientes similares, que torna o programa de melhoramento mais ágil e reduz custos (CRUZ & REGAZZI, 2007) têm sido ferramentas utilizadas.

3.5 Análise de trilha

Apesar dos coeficientes de correlações quantificarem a magnitude e direção das influências de fatores na determinação de características complexas, esses não determinam a importância relativa das influências diretas e indiretas deste sobre a variável básica (MACHADO et al., 2017).

O conhecimento das correlações fenotípicas, genotípicas, ambientais e o inter-relacionamento entre características se tornaram muito importantes (CRUZ, CARNEIRO & REGAZZI, 2014). Entretanto, a correlação permite apenas avaliar a magnitude e o sentido da associação entre duas características, em uma determinada condição experimental, mas não fornece informações sobre as causas e efeitos envolvidos nas associações entre as características.

A análise de trilha é um método proposto por Wright (1921), tem sido usualmente utilizado pelos pesquisadores, para avaliar o desdobramento das correlações estimadas em efeitos diretos e indiretos das características, que são influenciadas por uma variável básica e/ou principal.

Santos et al. (2018) em trabalho realizado com análise de trilha em genótipos de milho no Sul do Tocantins, relataram que as variáveis altura de plantas e comprimento da espiga apresentaram maior efeito direto sobre produtividade em genótipos de milho.

3.6 Divergência genética

Compreender a diversidade genética é fundamental para os programas de melhoramento, pois auxilia na escolha de genitores contrastantes, refletindo em eficiência e sucesso nas etapas seguintes do melhoramento e seleção de múltiplos caracteres de interesse econômico (GOVINDARAJ et al., 2015).

No estudo da diversidade genética de uma população, são utilizadas características morfoagronômicas, fazendo uso das diversas medidas de dissimilaridade por meio do método da distância generalizada de Mahalanobis (D²), (SIMON et al., 2012), o método de agrupamento de Tocher e o critério de Singh (1981) para quantificar a contribuição relativa dessas características para a divergência genética.

Conhecer a diversidade genética entre os genótipos avaliados é importante, mas também identificar quais características contribuem para essa diferenciação, se faz necessário e importante. Essa informação pode ser obtida pela estimativa da contribuição relativa de Singh (1981), que permite quantificar a contribuição individual de cada caráter com a diversidade, proporcionando reduzir o número de caracteres avaliados, pois identifica os que são fundamentais e os que pouco ou não contribuem para o estudo (CRUZ et al., 2011).

Segundo Alves et al. (2003), o grande interesse na avaliação da importância relativa dos caracteres reside na possibilidade de se descartarem características que contribuem pouco para a discriminação do material avaliado, reduzindo dessa forma, mão-de-obra, tempo e custo despendidos na experimentação.

Lopes et al. (2007), as relações entre as características de espigas são dependentes dos genótipos, e este fato pode complicar a tarefa dos melhoristas de plantas ao selecionar genótipos de milho. Pois comprimento médio de espiga é um dos caracteres que pode interferir, diretamente no número de grãos por fileira e, conseqüentemente, na produtividade da cultura (KAPPES et al., 2013).

REFERÊNCIAS

ALVES R. M. et al. Seleção de descritores botânico-agronômicos para caracterização de germoplasma de cupuaçuzeiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 38, n. 07, p. 807-818, 2003.

ANDRADE, A. T.; CONDÉ, A. B. T.; COSTA, R. L.; POMELA, A. W. B.; SOARES, A. L.; MARTINS, F. A. D.; LIMA, W. T.; OLIVEIRA, C. B. Produtividade de milho em função da redução do nitrogênio e da utilização de *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 15, n. 2, p. 229-239, 2016.

ARAÚJO, R. M.; et al. Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.44, n.9, p.1556-1560, set, 2014.

BARROS NETO, C. R. Efeito do nitrogênio e da inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* no rendimento de grãos de milho. 2008. 28 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, UEPG, 2008.

BARROS, DALINE TAYNÃ SANTOS et al. Produção de milho doce sob fontes e doses de nitrogênio em associação à *Azospirillum brasilense*. 2019.

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

BASHAN, Yoav; HOLGUIN, Gina; DE-BASHAN, Luz E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian journal of microbiology*, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.

BERTASELLO, LUIZ EDUARDO TILHAQUI; COELHO, ANDERSON PRATES; MÔRO, GUSTAVO VITTI. DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE MILHO CULTIVADOS SOB ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense*. *Revista Agroecossistemas*, v. 12, n. 2, p. 69-89, 2021.

BORNHOFEN, E.; BENIN, G.; STORCK, L.; WOYANN, L.G.; DUARTE, T.; STOCO, M.G.; ET A.L. Métodos estatísticos para estudar a adaptabilidade e estabilidade de genótipos de trigo. *Bragantia* 76 (1): 1-10.2017.

BRUSAMARELLO-SANTOS, L.C.; GILARD, F.; BRULÉ, L.; QUILLERÉ, I.; GOURION, B.; RATET, P.; SOUZA, E.M. de.; LEA, P.J.; HIREL, B. Metabolic profiling of two maize (*Zea mays* L.) inbred lines inoculated with the nitrogen fixing plant-interacting bacteria *Herbaspirillum seropedicae* and *Azospirillum brasilense*. *Plos One*, v.12, p.1-19, 2017.

CAPONE, A.; SANTOS, E.; SANTOS, A.; DARIO, A.; BARROS, H.B. Produtividade e qualidade de sementes de genótipos de soja para alimentação humana introduzidos em Tocantins, na entressafra. *Nucleus*, v.15, n.1, p.71-84, 2018.

CARDOSO, M. J.; SILVA, A. R.; GUIMARÃES, L. J. M.; PARENTONI, S. N.; SETUBAL, J. W. Produtividade e espiga verde de milho sob diferentes níveis de nitrogênio. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v. 28, n. 2 (Suplemento - CD Rom), p. S3786-S3789, 2010.

CARVALHO, E.V.; PELUZIO, J.M.; SANTOS, W.F.; AFFÉRI, F.S.; DOTTO, M.A. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de soja em Tocantins. *Revista Agro@mbiente Online*, v.7, n.2, p.162-169, 2013.

CD YAMADA, T. Adubação nitrogenada do milho. Quanto, como e quando aplicar? *Informações Agronômicas*, Piracicaba: Potafos, 1996.

COELHO, A. M. Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho. *Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo*, 11 p, 2007.

COELHO, B. A. et al. Produtividade do milho cultivado em baixa latitude na entressafra inoculado com *Azospirillum brasilense* com diferentes doses de nitrogênio. *Journal of Bioenergy and Food Science*, v. 6, p. 18-28, 2019.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira de grãos: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/2506-brasil-conclui-a-segunda-maior-safra-de-graos-com-228-3-milhoes-de-toneladas>, consulta online 2020/2021.

CRUZ, C. D., CASTOLDI, F.L. Decomposição da interação genótipo x ambientes em partes simples e complexa. *Revista Ceres* 38: 422-430. 1991.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. REGAZZI, A. J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa, MG: UFV, v. 2, 668p. 2014.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2011. 620p.

CRUZ, C. D; REGAZZI, A. J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa, MG: Imprensa Universitária, 480 p. 2007.

CUNHA, FERNANDO NOBRE et al. Efeito da *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no sudoeste goiano. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 13, n. 3, p. 261-272, 2014.

DARTORA J, GUIMARÃES VF, MARINI D, SANDER G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. *R Bra de Eng Agrí e Amb*. 2013; 17:1023-1029.

DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Recent advances in removing phosphorus from wastewater and its future use as fertilizer (1997–2003). *Water research*, v. 38, n. 19, p. 4222-4246, 2004.

DIAS, V. C., Dissertação. Efeito do *azospirillum brasilense* e nitrogênio no teor e no rendimento de óleo nos grãos de milho, em cultivo de entressafra, visando a produção de biodiesel. 2016.

DOBEREINER, J., BODDEY, R. M., BALDANI, V. L. D., BALDANI, J. I., DÖBEREINER, J. Effect of inoculation of *Azospirillum* spp. on the nitrogen assimilation of field grown wheat. *Plant and Soil*, v. 95, p. 109 – 121, 1986.

DONEL, J.F.W. Influência Do Fenômeno Enos Sobre A Cultura Do Milho No Brasil. 2018. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/bitstream/prefix/2369/1/DONEL.pdf>. Acesso em: 30/10/2019.

DOVALE, J. C.; et al. Índice de seleção para cultivares de milho com dupla aptidão: minimilho e milho verde. *Bragantia*, v. 70, n. 4, p. 781-787, 2011.

EBERHART, S. A.; Russel, W. A. Stability parameters for comparing varieties. *Crop science*, v. 6, n. 1, p. 36-40, 1966.

ENTRINGER, Geovana Cremonini et al. Correlação e análise de trilha para componentes de produção de milho superdoce. *Revista Ceres*, v. 61, n. 3, p. 356-361, 2014.

FARIA, L.A.; Peluzio, J.M.; Santos, W.F.; Souza, C.M.; Colombo, G.A.; Afféri, F.S. Oil and protein content in the grain of soybean cultivars at different sowing seasons. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.13, n.2, p1-7, 2018.

FELIPE, Cristiane Rachel de Paiva; DUARTE, João Batista; CAMARANO, Luciene Fróes. Estratificação ambiental para avaliação e recomendação de variedades de milho no Estado de Goiás. 2010.

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

GOVINDARAJ, M.; VETRIVENTHAN, M.; SRINIVASAN, M. Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genetics research international*, Londres, v. 2015, 2015.

HUNGRIA, M. et al. A inoculação com estirpes selecionadas de *Azospirillum brasilense* e *A. lipoferum* melhora rendimentos de milho e trigo no Brasil. *Planta e do solo*, v. 331, nº. 1-2, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Embrapa Soja, 2011.

INMET: <http://sisdagro.inmet.gov.br/sisdagro/app/monitoramento/bhc> consulta em 19/08/2020.

ITIS, H.H. & DOEBLEY, J.F. Taxonomy of *Zea* (Gramineae). II Subspecific categories in the *Zea mays* complex and generic synopsis. *American Journal of Botany*, v. 67, 1980.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M.V.; FERREIRA, J.P.; DAL BEM, E.A.; PORTUGAL, J.R.; VILELA, R.G. Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v.34, n.2, p.527- 538, 2013.

LIN, C. S. Grouping genotypes by cluster method directly related to genotype-environment interaction mean square. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 62, n. 3, p. 277-280, 1982.

LOPES, S. J. et al. Relações de causa e efeito em espigas de milho relacionadas aos tipos de híbridos. *Ciência Rural*, v. 37, n. 06, p. 1536-1542, 2007.

MACHADO, B. Q. V.; NOGUEIRA, A. P. O.; HAMAWAKI, O. T.; JORGE, G. L., REZENDE, G. F.; GLASENAPP, J. S.; HAMAWAKI, R. L.; HAMAWAKI, C. D. L. Agronomic performance and genetic diversity among lines and soybean cultivars. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 33, n. 6, 2017.

MALAVOLTA, E. et al. Manual de nutrição de plantas. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 638, 2006.

MARDEGAN, Catarina. Abordagem multivariada na análise de diversidade genética em cruzamentos para alto teor de óleo em soja. 2014.Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2014.

MARINI, D.; GUIMARÃES, V. F.; DARTORA, J.; LANA, M. do C.; PINTO JÚNIOR, A. S. Growth and yield of corn hybrids in response to association with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization. *Revista Ceres*, v.62, p.117-123, 2015.

MATOS, E. H. S. F. Cultivo do milho verde. Dossiê técnico. Disponível em:< [http://www.agrolink.com.br/downloads/Cultivo% 20do% 20Milho% 20Verde. pdf](http://www.agrolink.com.br/downloads/Cultivo%20do%20Milho%20Verde.pdf)>.[Acesso em: 05. x. 2014], 2007.

MEGDA, M. M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; TEIXEIRA FILHO, M. M. C.; VIEIRA, M. X. Resposta de cultivares de trigo ao nitrogênio em relação às fontes e épocas de aplicação sob plantio direto e irrigação por aspersão. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 33, n. 4, p. 1055-1060, 2009.

MORAIS TP, BRITO CH, BRANDÃO AM, OLIVEIRA JPR, REZENDE WS. Yield of maize hybrids: Is there any association among nitrogen rate, *Azospirillum* inoculation and fungicide treatment?. *Afr J Agric Res*. 1150-1158, 2016.

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.

NOVAKOWISKI, Jaqueline Huzar et al. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho Residual effect of nitrogen fertilization and *Azospirillum brasilense* inoculation in the maize culture. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 32, n. suplemento 1, p. 1687-1698, 2011.

PAES, M. C. D. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. Circular Técnica 75, Embrapa, 2006.

PAIXÃO, S.L.; CAVALCANTE, M.; FERREIRA, P.V.; MADALENA, J.A.S. E PEREIRA, R.G. Divergência genética e avaliação de populações de milho em diferentes ambientes no estado de Alagoas. *Revista Caatinga*, vol. 21, n. 4, p.191-195, 2008.

PEREIRA FILHO, I. A. O cultivo do milho-verde. Brasília, DF, Embrapa, 204p. 2003.

PORTUGAL, J. R. et al. Coberturas vegetais, doses de nitrogênio e inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho no Cerrado. *Revista Ciência Agronômica*, v. 48, n. 4, p. 639-649, out-dez, 2017.

QUADROS, PATRICIA DÖRR DE et al. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. *Revista Ceres*, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.

RAMBO, LISANDRO et al. Monitoramento do nitrogênio na planta e no solo para predição da adubação nitrogenada em milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 42, p. 407-417, 2007.

REIS VM, TEIXEIRA KRS. Fixação biológica do nitrogênio - Estado da arte. In: Aquino AM, Assis RL, editores. *Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; 2005.

ROCHA, DISRAELI REIS DA et al. Desempenho de cultivares de milho verde submetidas a diferentes populações de plantas em condições de irrigação. 2008.

ROTILI, E. A.; CANCELLIER, L. L.; DOTTO, M. A.; CARVALHO, E. V.; PELUZIO, J. M. Divergência genética em genótipos de milho, no Estado do Tocantins. *Revista Ciência Agronômica*, v. 43, n. 3, p. 516-521, 2012.

SANTOS, W. F.; AFFÉRI, F. S.; PELUZIO, J. M. Eficiência ao uso do nitrogênio e biodiversidade em genótipos de milho para teor de óleo. *Revista Ciências Agrárias*, v. 57, n. 3, 2014.

SANTOS, WF dos et al. Análise de trilha em genótipos de milho no Sul do Tocantins. *Tecnologia & Ciências Agropecuária*, v. 12, p. 49-52, 2018.

SCHIAVINATTI, A. F.; ANDREOTTI, M.; BENETT, C. G. S.; PARIZ, C. M.; LODO, B. N.; BUZETTI, S. Influência de fontes e modos de aplicação de nitrogênio nos componentes da produção e produtividade do milho irrigado no cerrado. *Bragantia, Campinas*, v. 70, n. 4, p. 925-930, 2011.

SILVA, EDSON CABRAL DA et al. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio na cultura do milho em plantio direto sobre Latossolo Vermelho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 29, p. 353-362, 2005.

SILVA, FLÁVIA ALVES MARQUES DA. Seleção de genótipos de milho quanto à eficiência no uso de *Azospirillum brasilense*. 2019.

SILVA, P. S. L.; DINIZ FILHO, E. T.; GRANJEIRO, L. C.; DUARTE, S. R. Efeitos de níveis de nitrogênio e da aplicação de deltametrina sobre os rendimentos de espigas verdes e de grãos de milho. *Revista Ceres, Viçosa, MG*, v. 47, p. 75-87, 2000.

SILVA, P. S. L.; SILVA, P. I. B. Parcelamento da adubação nitrogenada e rendimento de espigas verdes de milho. *Horticultura Brasileira, Brasília, DF*, v. 21, p. 150-153, 2003.

SIMON, G. A.; KAMADA, T.; MOITEIRO, M. Divergência genética em milho de primeira e segunda safra. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 33, n. 2, p. 449-458, 2012.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, v. 41, p. 237-245, 1981.

SOUZA, S. Inoculante reduz uso de nitrogênio em milho e aumenta produtividade em mais de 100% Embrapa. *Produção vegetal Fixação Biológica de Nitrogênio*, 2019.

SUBEDI, K.D.; MA, B.L. Assessment of some major yield-limiting factors on maize production in a humid temperate environment. *Field Crops Research, Amsterdam*, v. 110, n. 1, p. 21-26, 2009.

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

USDA. United States Department of Agriculture. *World Agricultural Production*. Circular Series, WAP 8-19, August 2019, consultas online 2020/2021.

VIEIRA, M. A. Cultivares e população de plantas na produção de milho-verde. 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

VILAR, L. Sementes douradas: uma história sobre o milho. *Seguindo os passos da história*, 2016.

WRIGHT S. (1921) Correlation and causation. Journal of Agricultural Research, Washington, 20:557-585, 1921.

WWW.AGENCIA.CNPTIA.EMBRAPA.BR/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_38_210200792814.html, consulta online outubro/2021.

YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S. Como melhorar a eficiência da adubação nitrogenada do milho. Informações Agronômicas, Piracicaba: POTAFOS, n.91, p.1-5, 2000.

CAPÍTULO I

Resposta de cultivares de milho, quanto a eficiência no uso de nitrogênio, associado a *Azospirillum brasilense*

RESUMO

O milho verde é uma alternativa econômica e social para pequenos e médios agricultores. Entretanto, o alto custo dos insumos, principalmente em relação ao uso do nitrogênio, tem avançado os estudos com bactérias fixadoras de nitrogênio. O trabalho foi realizado com objetivo de comparar a eficiência e resposta de cultivares comerciais de milho para produção de espigas verdes quanto ao uso do nitrogênio, com e sem aplicação da bactéria *Azospirillum brasilense* nas sementes. Foram instalados dois ensaios, nos anos agrícolas 2019/20 e 2020/21 em semeaduras realizadas em 04/12/2019 e 10/12/2020 nesta ordem, na Universidade Federal do Tocantins, Palmas-TO. Em cada ensaio, o delineamento experimental em blocos casualizados, com três repetições, sendo os tratamentos dispostos em parcelas subdivididas, onde foram alocados nas parcelas os tratamentos envolvendo os processos com inoculação de sementes com a bactéria *Azospirillum* (C Az) e sem inoculação de sementes (S Az), nas subparcelas foram alocadas duas doses de nitrogênio (30 e 120 kg ha⁻¹ N, consideradas como baixo e alto N, respectivamente) e nas subsub parcelas oito cultivares de milho. Foi realizada análise de variância conjunta para cada um dos processos de inoculação de sementes (C Az e S Az) e, em seguida, foi estudada a eficiência e resposta dos cultivares de milho, quanto ao uso de N, para cada processo. A inoculação das sementes com a bactéria promoveu alterações na eficiência e resposta dos cultivares quanto ao uso do nitrogênio. Os cultivares eficientes ao uso de N, com Az, foram BM-3061, BRS-2022 e AG-1051. O cultivar BRS-3046 foi o que mais se destacou para produtividade de espigas verdes, uma vez que foi eficiente e responsivo ao uso do nitrogênio com *Azospirillum brasilense*. A inoculação das

sementes com *Azospirillum brasilense* poderá ser uma alternativa viável na redução do uso de fertilizantes nitrogenados. Contudo, é importante a continuidade de novos estudos para milho-verde.

Palavras-chave: *Zea mays*; Fixação biológica; Milho-verde; Agricultura familiar; Nitrogênio.

1 INTRODUÇÃO

A produção de milho-verde (*Zea mays*) é uma fonte de renda e alimento, tanto para alimentação humana como animal, sendo utilizado, pelo mercado consumidor em grão ou *in natura* “espigas verdes” e na indústria de enlatados (RANUM et al., 2014). Na culinária brasileira, é comercializado nas feiras livres, mercearias e redes de supermercados e, até mesmo, nas beiras de rodovias nas formas de assado, cozidos e etc (CONTINI et al., 2019).

Na região Norte do Brasil, especificamente no estado do Tocantins, a baixa produtividade do milho ocorre, dentre outros fatores, devido à presença de altas temperaturas, baixo nível tecnológico, escassez de sementes melhoradas, e as condições de estresses abióticos, tais como as variações climáticas e nutricionais, relacionadas principalmente a deficiência de N (SANTOS, 2014).

O uso dos fertilizantes nitrogenados é um dos fatores responsáveis pela alta produtividade do milho. Segundo Lemaire & Gastal (1997), o N é o elemento exigido em maior quantidade pelo milho e o mais limitante para a produtividade de grãos. Contudo, seu uso contínuo onera os custos da produção relacionados à sua aquisição, ao transporte, ao parcelamento de aplicação e etc. (MATOSO et al., 2012; SILVA JUNIOR, 2020).

A obtenção de genótipos com maior eficiência no uso do nitrogênio (EUN) seria uma alternativa desejável para a agricultura capitalizada e de baixo uso de insumos, visando reduzir os desperdícios e a escassez desse elemento mineral, que poderia gerar problemas econômicos, ambientais, de saúde pública e de segurança alimentar (ROESCH et al., 2005). Uma alternativa para o fornecimento do N para as plantas seria utilizar as bactérias promotoras de crescimentos de plantas (BPCP) para a fixação biológica de nitrogênio (FBN). Neste sentido a bactéria *Azospirillum brasilense*, é considerada uma alternativa barata, limpa e sustentável no fornecimento de N, com benefícios para agricultura atual (HUNGRIA, 2011), além de contribuir para a diminuição da emissão de gases de efeito estufa (SOUZA, 2019).

Entretanto, ainda existem contradições a respeito da eficiência do uso da inoculação de *Azospirillum brasilense* em sementes de milho. Araújo et al. (2014) destaca que a eficiência pode aumentar em até 30% na produtividade e promover redução de até 15% de

adubação nitrogenada. Souza (2019) relata não obter incrementos nas plantas quando inoculadas com a bactéria e doses nitrogênio. Segundo Quadros et al. (2014), o sucesso da inoculação pode variar devido alguns fatores, tais como o local, tipo de solo, clima da região e genótipo das plantas.

Vários pesquisadores têm buscado a obtenção de genótipos com maior EUN para a cultura do milho (CANCELLIER et al., 2011; CARVALHO et al., 2012; DOS SANTOS et al., 2016; DOS SANTOS et al., 2017; DOS SANTOS et al., 2018b; DOS SANTOS et al., 2019). Entretanto, são escassos os estudos envolvendo genótipos de milho, responsivos e eficientes ao uso do nitrogênio, após a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, bem como comparações envolvendo EUN em cultivares com sementes inoculadas e não inoculadas com *Azospirillum*.

O trabalho foi realizado com o objetivo de comparar a eficiência e resposta de cultivares comerciais de milho para produção de espigas verdes quanto ao uso de doses menores nitrogênio (N), quando comparadas com as recomendadas para plantio convencional da cultura, e associado com e sem aplicação da bactéria *Azospirillum brasilense* nas sementes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram instalados dois ensaios na área experimental da Universidade Federal do Tocantins em Palmas-TO (latitude $10^{\circ}12'46''S$, longitude $48^{\circ}21'37''W$ e altitude de 260 m), sendo um no ano agrícola 2019/20, em semeadura realizada em 04/12/2019, e outro no ano agrícola 2020/21, em semeadura realizada em 10/12/2020.

O clima é do tipo tropical úmido (Köppen, Aw) o que contribui para as altas temperaturas na região. Nos períodos de condução dos ensaios, as médias de temperaturas máxima, mínima e umidade relativa ficaram nas faixas de 35,9 °C; 26,33 °C e 65,96% de UR respectivamente. O total acumulado de precipitação no período foi de 1.418 mm, com médias mensais de 354.5 mm (INMET 2020/21).

O solo da área experimental, de acordo com Sistema Brasileiro de Classificação de Solos é do tipo Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (DOS SANTOS, 2018a). As amostras de solo coletadas a uma profundidade de 0 a 20 cm, e suas análises químicas revelaram as seguintes características: pH(CaCl₂) 6,0; Argila 15,5%; Silte 5,9%; Areia 78,6%; M.O 11,63 g dm⁻³; P (Mehlich⁻¹) 9,92 mg dm⁻³; K 0,2 cmol dm⁻³; Ca 1,90 cmol dm⁻³; Mg 1,12 cmol dm⁻³; S.B 3,22 cmol dm⁻³; CTC 5,02 cmol dm⁻³, e V 64,14%.

O delineamento experimental utilizado, em cada ensaio, foi de blocos casualizados, com três repetições. Os tratamentos foram dispostos em parcelas

subsubdivididas, onde foram alocados nas parcelas os tratamentos com inoculação de sementes com *Azospirillum* (C Az) e sem inoculação de sementes (S Az), nas subparcelas duas doses de nitrogênio (30 e 120 kg ha⁻¹ N, consideradas como baixo e alto N, respectivamente) e nas subsub parcelas oito cultivares de milho, sendo três híbridos simples (M-274, PR-27D28, AG 8088-PRO2), dois híbridos duplos (BRS-2022, AG-1051), dois híbridos triplos (BRS-3046, BM-3061) e uma variedade de polinização aberta (Anhemi), todos adquiridos no comércio local.

As unidades experimentais foram constituídas por quatro fileiras, com 3,0 m de comprimento, espaçadas por 1,0 m totalizando uma área de 12,0 m². Na colheita, considerou-se área útil as duas fileiras centrais, descartando 0,50 m das extremidades.

Foi realizado o preparo do solo convencional. Pelo valor do pH não foi necessário a realização de calagem. Na semeadura foi realizada adubação no sulco com 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, na forma de super simples e 48 kg ha⁻¹ de K₂O na forma de cloreto de potássio. O manejo adotado levou se em consideração agricultura familiar e baixo investimento tecnológico, ou seja, a adubação de base, e as doses de N foram menores que as recomendada para o cultivo convencional do milho (120 a 150 kg ha⁻¹ N).

Foi feita a semeadura direto no sulco, e as sementes foram inoculadas 30 minutos antes do plantio com a bactéria *Azospirillum brasilense* (AbV5 e AbV6), sendo 100ml do inoculante para cada 25 kg de sementes de milho, conforme recomendado pelo fabricante. A densidade populacional foi 50 mil plantas por hectare (PAIVA JUNIOR, 2001).

O controle de plantas daninhas foi realizado fazendo uso herbicida pós-emergente específico para cultura do milho, (Soberan, Nicon/Nicossulfouran e Peroleo) dose de 100 ml, por bomba de 20 litros. Posteriormente, foram realizadas capinas. Não foi necessário o controle pragas e doenças.

A adubação de cobertura foi realizada com sulfato de amônia (21% de N), nas doses de 30 (baixo N) e 120 kg ha⁻¹ (alto) nas entrelinhas das parcelas, sendo metade aplicada no estágio V3 e a outra metade no estágio V8 (três e oito folhas verdadeiras), (RITCHIE et al., 2003).

Na área útil de cada parcela, foram colhidas as espigas verdes à medida que os grãos se apresentavam entre 70% e 80% de umidade, que ocorreu nos estádios R3 e R4 (FORNASIERI FILHO, 2007). Em seguida, as espigas foram despalhadas e o peso de cada parcela foi convertido em kg ha⁻¹.

Os dados de cada experimento foram submetidos à análise de variância individual e, quando verificado a homogeneidade das variâncias, prosseguiu-se com a análise conjunta para cada um dos processos de inoculação de sementes (com e sem *Azospirillum brasilense*).

Em seguida foi estudada a eficiência e resposta dos cultivares de milho quanto ao uso de nitrogênio (N), para cada processo, segundo a metodologia proposta por (FAGERIA & KLUTHCOUSKI, 1980).

Por esta metodologia, a eficiência correspondeu à medida de produtividade de espigas verdes em cada cultivar no ambiente com baixo nitrogênio (BN) (30 kg ha⁻¹ de N). Por outro lado, a resposta à aplicação do N para cada cultivar, encontra-se representada pela fórmula abaixo:

$$\text{Resposta (\%)} = (RAN - RBN) / (DEN)$$

RAN = rendimento em alto N;

RBN = rendimento em baixo N e;

DEN = diferença entre as doses aplicadas (alto N – baixo N, em kg ha⁻¹).

Foi utilizada a representação gráfica no plano cartesiano para classificar os cultivares, sendo que no eixo das abscissas, está representada a eficiência do uso do N e no eixo das ordenadas as respostas à sua aplicação. O ponto de origem dos eixos corresponde à eficiência média e resposta média dos cultivares. Com esse parâmetros os cultivares foram agrupados quanto a eficiência em: *Eficientes e Responsivos* (quadrante I); *Não Eficientes e Responsivos* (quadrante II); *Não Eficientes e Não Responsivos* (quadrante III); e *Eficientes e Não Responsivos* (quadrante IV).

As médias dos cultivares interagindo com os ambientes de nitrogênio, nos processos com inoculação de sementes (C Az) e sem a inoculação de sementes (S Az) com a bactéria *Azospirillum brasilense*, foram comparadas pelo teste de Scott Knott, a 5% de significância, com a utilização do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011). Para a elaboração dos gráficos, foi utilizado o programa Origin Pro 8.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias de produtividade de espigas verdes despalhadas (kg ha⁻¹) dos oito cultivares de milho, em dois níveis de nitrogênio (30 e 120 kg ha⁻¹ N) e em dois processos de inoculação com *Azospirillum* (C Az) e sem *Azospirillum* (S Az), bem como os índices de eficiência e resposta são apresentados na tabela 1.

Os coeficientes de variação CV (%) foram de C Az = 2,20 e S Az = 2,29 (Tabela 1), o que indica uma boa precisão na condução do ensaio experimental (PIMENTEL-GOMES, 2009).

O estudo comparativo entre as doses de N, em cada processo de inoculação, revelou que tanto no processo C Az quanto no processo S Az, todos os cultivares apresentaram maior produtividade de espigas sob alto N (120 kg ha^{-1}).

O nitrogênio é o nutriente com maior demanda na cultura do milho (SILVA et al., 2013), estando presente em funções relevantes no metabolismo vegetal, como a síntese de proteína, absorção iônica, fotossíntese, respiração, multiplicação e diferenciação celular, refletindo em última instância nas características da planta relacionadas ao crescimento e desenvolvimento, as quais, direta ou indiretamente, afetam a produtividade da cultura (GAZOLA et al., 2014; OKUMURA et al., 2011). Segundo Coelho (2007) aproximadamente de 70 a 77% de todo o N absorvido é exportado para os grãos.

Os resultados estão de acordo com Dos Santos et al. (2019), que estudaram a eficiência e resposta de cultivares de milho ao uso de nitrogênio no sul do estado do Pará, para a produção de silagem e, também, verificaram um melhor desempenho de todos os cultivares quando sob cultivo em alto N.

Tabela 1. Médias de produtividade de espigas verdes despalhadas (kg ha^{-1}) de oito cultivares de milho-verde, em dois níveis de nitrogênio (30 e 120 kg ha^{-1} N) e dois processos de inoculação C Az (com *Azospirillum*) e S Az (sem *Azospirillum*), nos anos agrícolas 2019/2020 e 2020/2021, em Palmas – TO.

Cultivares	Doses Baixo N (BN) e Alto N (AN) (kg ha^{-1})					
	BN (30 kg ha^{-1})		AN (120 kg ha^{-1})		Resposta (%)	
	C Az	S Az	C Az	S Az	C Az	S Az
BRS-3046	9.037bA	8.920bA	10.784aA	9.974aA	19,41	11,71
Anhembí	7.719bB	8.200bB	9.343aB	9.085aB	14,04	9,83
M-274	7.811bB	8.678bA	9.606aB	9.261aB	19,94	6,47
PR-27D28	8.350bB	7.568bB	9.112aB	9.283aB	8,47	19,05
BRS-2022	8.670bA	8.184bB	9.540aB	9.323aB	9,67	12,65
BM-3061	9.474bA	8.300bB	10.214aA	9.974aA	8,22	18,60
AG-1051	9.136bA	9.380bA	9.614aB	10.071aA	5,31	7,68
AG 8088-PRO2	8.481bB	8.397bB	9.714aB	10.081aA	13,70	18,71
MÉDIA	8.585b	8.578b	9.741a	9.632a	12,35	13,09
Média Geral					C Az 9.163 e S Az 8.977	
CV (%)					C Az 2,20 e S Az 2,29	

1- Médias entre as doses de N, para o mesmo processo de inoculação e para o mesmo cultivar, seguidas pela mesma letra minúscula, na linha pertencem ao mesmo grupo estatístico pelo teste de Scott Knott (1974), a 5% significância.

2- Médias entre os cultivares, para a mesma dose de N e para o mesmo processo de inoculação, seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna pertencem ao mesmo grupo estatístico pelo teste de Scott Knott (1974), a 5% significância.

Quando comparados os cultivares, dentro de cada processo de inoculação e dentro de cada dose de N, pode-se observar que sempre foram formados dois grupos de médias, que diferiram quanto à sua composição. Neste sentido, quando inoculadas as sementes (C Az),

tanto em alto N quanto em baixo N, os cultivares BRS-3046 e BM-3061 foram os que mais se destacaram. Por outro lado, no processo sem inoculação (S Az), em alto e baixo N, BRS-3046 e AG-1051 foram os mais produtivos.

Ressalta-se a maior produtividade de BRS-3046 e as menores produtividades da variedade Anhembi e PR-27D28 em todas as doses de N e em todos os processos de inoculação. A menor produtividade do cultivar Anhembi ocorreu pelo fato das variedades serem conhecidas como cultivares de polinização aberta e são obtidas pela livre polinização de um grupo de indivíduos selecionados. Assim, são altamente heterozigóticos e heterogêneos, apresentam maior variabilidade genética e menor uniformidade e produtividade (FRITSCHÉ-NETO, 2015).

Segundo Fancelli (1986), o desempenho agrônomico e produtivo de cultivares de milho, estão diretamente caracterizados pelas diferentes fases fenológica da cultura, aliado à sua associação com os nutrientes.

A eficiência e resposta à adubação nitrogenada dos cultivares no processo sem inoculação das sementes *Azospirillum* (S Az), relativos à produção de espigas verdes, são apresentadas na figura 1a.

Os cultivares M-274, AG-1051 e BRS-3046 (Quadrante IV) foram considerados como eficientes à aplicação do N, por terem apresentado produção de espigas verdes sob baixo N (BN), sendo maior que a média geral dos cultivares em BN, e não responsivos, ou seja, são recomendados para propriedades que adotam baixo nível tecnológico (SODRÉ et al., 2016).

Os cultivares AG 8088-PRO2, PR-27D28 e BM-3061 (Quadrante II) e Anhembi e BRS-2022 (Quadrante III) foram classificados como não eficientes. Destes, os três primeiros são responsivos e os dois últimos não responsivos. Cultivares não eficientes e responsivos são indicados para serem utilizados pelos produtores que dispõem de um alto nível tecnológico (DOS SANTOS et al., 2018). Por outro lado, cultivares não eficientes e não responsivos não são indicados para serem utilizados em quaisquer propriedades agrícolas (FIDELIS et al., 2014).

Em trabalhos realizados no Sul do Estado do Pará que avaliaram a eficiência e resposta de onze cultivares comerciais de milho à adubação nitrogenada, para a produção de silagem, também obtiveram classificações similares para os cultivares BRS-3046 e Anhembi, quanto à eficiência de nitrogênio (DOS SANTOS et al., 2019).

Ressalta-se que sem inoculação das sementes com *Azospirillum* (S Az), não foram obtidos cultivares eficientes e responsivos (Quadrante I). Tal fato não ocorreu quando foram

inoculadas as sementes, revelando a importância da *Azospirillum brasilense* no desempenho dos cultivares.

O germoplasma de milho é constituído por raças crioulas, populações adaptadas e híbridos caracterizando por ampla variabilidade genética, que pode interferir na eficiência de uso do nitrogênio (MAJEROWICZ et al., 2002).

Fernandes et al. (2005), trabalhando com seis cultivares de milho, também evidenciaram diferenças significativas na eficiência de utilização de N pelas plantas, em virtude das variações genéticas dentre os genótipos (ALFOLDI et al., 1992).

A eficiência e resposta à adubação nitrogenada dos cultivares no processo com inoculação das sementes com *Azospirillum* (C Az), para produção de espigas verdes, são apresentadas na figura 1b.

Os cultivares BRS-3046 (Quadrante I) e BRS-2022, BM-3061 e AG-1051 (Quadrante IV) foram considerados como eficientes à aplicação do N. Destes, BRS-3046, destacou por ser eficiente e responsivo à aplicação do N e os demais não responsivos. Segundo Fidelis et al. (2014) genótipos considerados eficientes e responsivos são recomendados para cultivos agrícolas de baixo até o alto nível tecnológico, sendo assim viável economicamente para pequenas propriedades e agricultura familiar.

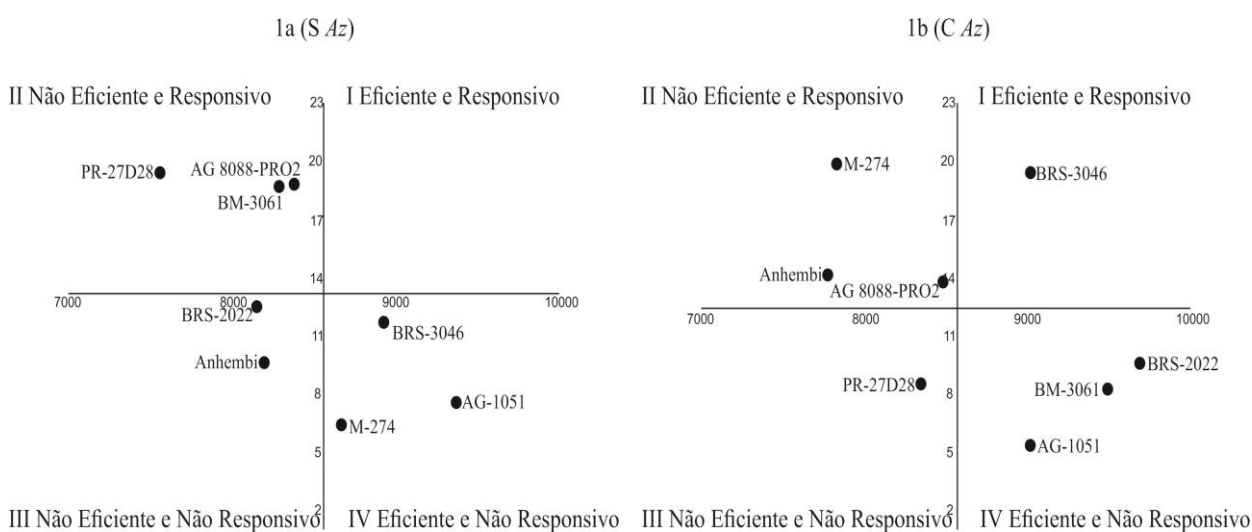


Figura 1. Eficiência e resposta de aplicação de nitrogênio associado aos processos com e sem *Azospirillum brasilense* (C Az e S Az), em oito cultivares de milho-verde em Palmas – TO, nas safras 2019/2020 e 2020/2021.

Os cultivares M-274, Anhembi e AG 8088-PRO2 (Quadrante II) e PR-27D28 (Quadrante III) foram classificados como não eficientes. Destes, os três primeiros são responsivos e PR-27D28 não responsivo.

O estudo comparativo entre os processos de eficiência e resposta do N com a inoculação das sementes (C Az) (figura 1b) e sem inoculação das sementes (S Az) (figura 1a) revelou alterações nas classificações de todos os cultivares, com exceção dos cultivares AG 8088-PRO2 e AG-1051.

Os cultivares, BM-3061 e BRS-2022 que foram classificados como não eficientes à aplicação do N no processo sem inoculação das sementes (S Az), no processo com a inoculação das sementes com *Azospirillum* (C Az) foram classificados como eficientes. Tal fato pode ter sido oriundo de uma maior disponibilidade de N via fixação simbiótica e, também, de uma maior absorção do nitrato disponível no solo pelo maior desenvolvimento do sistema radicular das plantas.

As bactérias do gênero *Azospirillum spp.*, são capazes de estimular o crescimento das plantas através da fixação biológica de nitrogênio e do aumento na atividade da redutase do nitrato (HUNGRIA, 2011; INIGUEZ et al., 2004), bem como podem alterar a morfologia e crescimento das raízes, possibilitando a exploração de maior volume de solo (BASHAN & HOLGUIN, 1997; ZAIED, 2003). Esse maior crescimento de raízes, que ocorre em virtude da maior presença do ácido indolacético (ANDRADE et al., 2016), poderá aumentar a absorção de minerais do solo (OKON & LABANDERA-GONZALEZ, 1994), incluindo o nitrato, P e K (BASHAN & HOLGUIN, 1997; BASHAN et al., 2004) resultando em uma maior produção de matéria seca, que aliado à um maior acúmulo de N na planta, promoverá incrementos na produtividade (MARINI et al., 2015; MÜLLER et al., 2016; PORTUGAL et al., 2016).

Para Chotte et al. (2002), em solos com deficiência de N, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) pode suprir a carência deste nutriente no solo, de modo que a ocorrência de microrganismos diazotróficos em números elevados pode ser essencial para que a FBN seja efetiva.

A eficiência da utilização de *Azospirillum spp.*, no desenvolvimento da cultura do milho, tem sido objeto de pesquisa a vários anos. Okon & Vanderleyden (1997), analisando dados de 22 anos de estudos de campo, concluíram que as bactérias do gênero *Azospirillum spp.*, tendem a promover ganhos de rendimento para a cultura do milho nas mais variadas condições de clima e solo. Esses mesmos autores, também salientam que a influência do *Azospirillum spp.*, não se prende somente ao fato de que esses microrganismos atuam na fixação biológica de nitrogênio, mas também atuam como promotores de crescimento, auxiliando no aumento da superfície de contato do sistema radicular das plantas, o que culmina em maior absorção de água e nutrientes pelas raízes.

Segundo Hungria (2011), o *Azospirillum*, provavelmente, resulta em plântulas maiores, com rápido crescimento inicial, e em plantas com um maior número de raízes e com raízes mais longas, que propicia uma maior quantidade de matéria seca na parte aérea (28%) e um maior rendimento de grãos 7,1% (média de 221 locais). Ainda segundo este mesmo autor, as bactérias do gênero *Azospirillum* são consideradas associativas e excretam apenas uma

parte do nitrogênio fixado diretamente para a planta associada, o que suprirá parcialmente as necessidades das plantas com N, que ainda é dependente do híbrido utilizado, de condições edafoclimáticas e do manejo adequado da cultura. Assim, além da fixação de nitrogênio proveniente das bactérias associativas, tem-se a necessidade da adubação nitrogenada para que a planta obtenha todo o nitrogênio necessário para o seu desenvolvimento.

Com relação à resposta ao N, os cultivares Anhembi, M-274 e BRS-3046 que foram classificados como não responsivos à aplicação do N no processo sem inoculação das sementes (S Az), quando houve a inoculação das sementes com *Azospirillum* (C Az), foram classificados como responsivos. Por outro lado, PR-27D28 e BM-3061 que foram responsivos à aplicação do N no processo sem inoculação das sementes (S Az), passaram a ser não responsivos quando houve a inoculação das sementes com *Azospirillum* (C Az).

O genótipo da planta pode influenciar a eficiência da fixação de N. Além disso, há também a interação entre genótipo da planta e a estirpe inoculada, (SALA et al., 2005), e indicando uma resposta diferencial dos genótipos de acordo com a forma de inoculação utilizada (BASHAN & DE-BASHAN, 2010). Assim, medidas como identificação, seleção e uso de genótipos de milho menos exigentes para o elemento N são ferramentas relevantes do ponto de vista econômico e ambiental (REIS JÚNIOR et al., 2008).

Salomone & Dobereiner (1996) avaliando diferentes genótipos de milho inoculados com *Azospirillum* obtiveram respostas diferenciadas quanto à inoculação sob o rendimento na produção, destacando que existem variações nas interações entre genótipos de milho e bactérias diazotróficas.

Chotte et al. (2002) ao avaliarem 32 cultivares de milho quanto à eficiência na absorção de nitrogênio e na associação com bactérias diazotróficas, verificaram que a ocorrência de elevada população de bactérias diazotróficas e a baixa resposta à adubação nitrogenada juntamente com um grande acúmulo de N em condições de baixa fertilidade, podem indicar um cultivar promissor para futuros estudos de seleção de cultivares eficientes para cultivo em solos com baixa disponibilidade de nitrogênio.

Reis et al. (2000) relataram que, em muitos casos, a ausência de resposta à inoculação de bactérias diazotróficas em gramíneas tem sido atribuída ao uso de linhagens inadequadas. Contudo, há consenso de que o genótipo da planta é o fator chave para a obtenção dos benefícios oriundos da FBN, aliado à seleção de estirpes eficientes.

4 CONCLUSÃO

A inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* promoveu alterações na eficiência e resposta dos cultivares quanto ao uso do nitrogênio;

Os cultivares eficientes ao uso de N, na presença de *Azospirillum brasilense*, foram BM-3061, BRS-2022 e AG-1051. Ressalta-se ainda que na média geral os cultivares obtiveram ganhos de produtividades de espigas verdes;

O cultivar BRS-3046, se destacou e obteve seu melhor incremento para o cultivo de espigas verdes, uma vez que foi eficiente e responsivo ao uso do nitrogênio na presença de *Azospirillum brasilense*;

A inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* poderá ser uma alternativa viável na redução do uso de fertilizantes nitrogenados. Contudo, é importante a continuidade de novos estudos para milho-verde.

REFERÊNCIAS

ALFOLDI, Z.; PINTER, L.; FEIL, G. Acúmulo e partição de biomassa e carboidratos solúveis em mudas de milho em função da fonte de nitrogênio, concentração de nitrogênio e cultivar. *Journal of Plant Nutrition*, v. 15, n. 11, pág. 2567-2583, 1992.

ANDRADE, A. T.; CONDÉ, A. B. T.; COSTA, R. L.; POMELA, A. W. B.; SOARES, A. L.; MARTINS, F. A. D.; LIMA, W. T.; OLIVEIRA, C. B. Produtividade de milho em função da redução do nitrogênio e da utilização de *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 15, n. 2, p. 229-239, 2016.

ARAÚJO, R. M.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. V. B. Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. *Ciência Rural*, vol.44, n. 9, 2014.

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

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* - plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology*, v. 43, n. 2, p. 103-121, 1997.

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

CANCELLIER, L. L.; AFFÉRI, F. S.; CARVALHO, E. V.; DOTTO, M. A.; LEÃO, F. F. Eficiência no uso de nitrogênio e correlação fenotípica em populações tropicais de milho no Tocantins. *Revista Ciência Agrônômica*, v. 42, n. 1, p. 139-148, 2011.

CARVALHO, R. P.; PINHO, R. G. V.; DAVIDE, L. M. C. Eficiência de cultivares de milho na absorção e uso de nitrogênio em ambiente de casa de vegetação. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 33, n. 6, p. 2125-2136, 2012.

CHOTTE, J. L.; SCHWARTZMANN, A.; BALLY, R.; MONROZIER, L. J. Changes in bacteria communities and Azospirillum diversity in soil fraction of a tropical soil under 3 or 19 years of natural fallow. *Soil Biology and Biochemistry*, v.34, p.1083–1092, 2002.

COELHO, A. M. Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 11 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 96), 2007.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira de grãos: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/2506-brasil-conclui-a-segunda-maior-safra-de-graos-com-228-3-milhoes-de-toneladas>, consulta online 2020/2021.

CONTINI, E.; MOTA, M. M.; MARRA, R.; BORGHI, E.; MIRANDA, R. A.; SILVA, A. F.; SILVA, D. D.; MACHADO, J. R. A.; COTA, L. V.; COSTA, R. V.; MENDES, S. M. 2019. Milho: caracterização e desafios tecnológicos. Brasília: Embrapa. (Desafios do Agronegócio Brasileiro, 2), 2019.

DOS SANTOS, H. G. ; JACOMINE, P. K. T.; DOS ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBREAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. M.; FILHO, J. C. A.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. Sistema brasileiro de classificação de solos. 5. Ed., ver. Edição ampliada - Embrapa, 366p, 2018a.

DOS SANTOS, W. F.; AFFÉRI, F. S.; PELÚZIO, J. M.; SODRÉ, L. F.; ROTILI, L. A.; CERQUEIRA, F. B.; FERREIRA, T. P. S. Genetic diversity in maize under nitrogen restriction conditions. *Journal of bioenergy and food science*, v. 5, n. 2, p. 44-53, 2018b.

DOS SANTOS, W. F.; PELUZIO, J. M.; AFFÉRI, F. S.; SODRÉ, L. F.; HACKENHAAR, C.; REINA, E. Eficiência e resposta ao uso do nitrogênio em genótipos de milho para rendimento de proteína. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, v. 10, n. 4, p. 6-11, 2016.

DOS SANTOS, W. F.; SANTOS, L. F. S.; PELÚZIO, J. M.; DA SILVA, R. M.; SALES, V. H. G.; MELO, M. P. Cultivo para alto e baixo nitrogênio em genótipos de milho no Tocantins. *Revista Cereus*, v. 11, n. 2, p. 12-20, 2019.

DOS SANTOS, W. F.; SANTOS, L. F. S.; PELÚZIO, J. M.; PEREIRA, J. F.; REIS, I. M.; DA SILVA, R. M. Resposta e eficiência ao uso do nitrogênio em genótipos de milho tropicais. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, v. 11, n. 4, p. 7-12, 2017.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Bactérias aumentam produtividade do milho e reduzem adubos químicos <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2467608/bacterias-aumentam-produtividade-do-milho-e-reduzem-adubos-quimicos>, consultas online realizadas de 2020/2021.

FAGERIA, N. D.; KLUTHCOUSKI, J. Metodologia para avaliação de cultivares de arroz e feijão para condições adversas de solo. Brasília: EMBRAPA/CNPAP, 22p., 1980.

FANCELLI, A. L. Plantas Alimentícias: guia para aula, estudos e discussão. Piracicaba: ESALQ/USP, 1986.

FERNANDES, F. C. S.; BUZETTI, S.; ARF, O.; ANDRADE, J. A. C. Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 4, n. 2, p. 195- 204, 2005.

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

FIDELIS, R. R.; MIRANDA, G. V.; ERASMO, E. A. L. Classificação de populações de milho quanto a eficiência e resposta ao uso de fósforo. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, v. 19, n. 2, p. 59-64, 2014.

FORNASIERI FILHO, D. Manual da cultura do milho. Jaboticabal: Funep, 2007, 576p.

FRITSCHÉ-NETO, Roberto; MÔRO, Gustavo Vitti. Escolha do cultivar é determinante e deve considerar toda informação disponível. *Rev Visão Agríc*, v. 9, p. 12-15, 2015.

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

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Embrapa Soja, 36p., 2011.

INIGUEZ, A. L.; DONG, Y.; TRIPLETT, E. W. Nitrogen fixation in wheat provided by *Klebsiella pneumoniae* 342. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v.17, p.1078-1085, 2004.

INMET: <http://sisdagro.inmet.gov.br/sisdagro/app/monitoramento/bhc> consultas em 2020/2021.

LEMAIRE, G.; GASTAL, F. N. N uptake and distribution in plant canopies. In: LEMAIER, G. (Ed.). *Diagnosis of the nitrogen status in crops*. Berlin: Springer, p.3-43, 1997.

MAJEROWICZ, N.; PEREIRA, J. M. S.; MEDICI, L. O.; BISON, O.; PEREIRA, M. B.; SANTOS JÚNIOR, U. M. Estudo da eficiência de uso do nitrogênio em variedades locais e melhoradas de milho. *Revista Brasileira de Botânica*, v.25, n.2, p.129-136, 2002.

MARINI, D.; GUIMARÃES, V. F.; DARTORA, J.; LANA, M. do C.; PINTO JÚNIOR, A. S. Growth and yield of corn hybrids in response to association with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization. *Revista Ceres*, v.62, p.117-123, 2015.

MATOSO, S. C. G.; SILVA, A. N.; PEREIRA, E. C. F.; COLLETA, Q. P.; MAIA, E. Frações de carbono e nitrogênio de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico sob diferentes usos na Amazônia brasileira. *Acta Amazônica*, v. 42, n. 2, p. 231-240, 2012.

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.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. *ASM News*, v. 63, n. 7, p. 364-370, 1997.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. A. Aplicações agronômicas de *Azospirillum*: uma avaliação de 20 anos de inoculação em campo mundial. *Biologia do Solo e Bioquímica*, v. 26, n. 12, pág. 1591-1601, 1994.

OKUMURA, R. S.; DE CINQUE MARIANO, D.; ZACCHEO, P. V. C. Use of nitrogen fertilizer in corn. *Applied Research & Agrotechnology*, v. 4, n. 2, p. 226-244, 2011.

PAIVA JUNIOR, M. C.; PINHO, R. G.; PINHO, E. V. R.; RESENDE, S. G. Desempenho de cultivares para a produção de milho verde em diferentes épocas e densidades de semeadura em Lavras-MG. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 25, n. 5, p.1235-1247, 2001.

PIMENTEL-GOMES, F. Curso de Estatística Experimental. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 451 p., 2009.

PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; PERES, A. R.; GITTI, D. de C.; RODRIGUES, R. A. F.; GARCIA, N. F. S.; GARÉ, L. M. *Azospirillum brasilense* promotes increment in corn production. *Academic Journals*, v. 11, n. 19, p. 1688-1698, 2016.

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

RANUM, P.; PENA-ROSAS, J. P.; GARCIA-CASAL, M. N. Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v.1312, p. 105-112, 2014.

REIS JUNIOR, F. B; MACHADO, C. T. de T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, p. 1139–1146, 2008.

REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L.; DÖBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. *Critical Reviews in Plant Science*, v.19, n.3, p.227-247, 2000.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. Piracicaba: Potafos, 2003.

ROESCH, L. F.; CAMARGO, F.; SELBACH, P.; SACCOL DE SÁ, E.; PASSAGLIA, L. Identificação de cultivares de milho eficientes na absorção de nitrogênio e na associação com bactérias diazotróficas. *Ciência Rural*, v. 35, n. 04, p. 924-927, 2005.

SALA, V. M. R.; FREITAS, S. S.; DONZELI, V. P.; FREITAS, J. G.; GALLO, P. B.; SILVEIRA, A. P. D. Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. MG, v.29, n.3, p.345-352, 2005.

SALOMONE, I. E. G.; DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. *Biology and Fertility of Soils*, v. 21, n. 3, p.193-196, 1996.

SANTOS, W. F.; AFFÉRI, F. S.; PELUZIO, J. M. Eficiência ao uso do nitrogênio e biodiversidade em genótipos de milho para teor de óleo. *Revista Ciências Agrárias*, v. 57, n. 3, 2014.

SEAGRO - Secretaria da Agricultura, Pecuária e Aquicultura DO Tocantins deve bater novo recorde na produção do milho safrinha em 2020 [HTTPS://seagro.to.gov.br/noticia/2020/6/16/tocantins-deve-bater-novo-recorde-na-producao-do-milho-safrinha-em-2020/](https://seagro.to.gov.br/noticia/2020/6/16/tocantins-deve-bater-novo-recorde-na-producao-do-milho-safrinha-em-2020/), consultas online realizadas em 2020/2021.

SILVA JUNIOR, J. A. M. Inoculação com *azospirillum brasilense* na cultura do milho associada a diferentes doses de adubação nitrogenada. [HTTP://repositorio.aee.edu.br/jspui/handle/aee/9509](http://repositorio.aee.edu.br/jspui/handle/aee/9509) 2020.

SILVA, N. R. Biomassa, eficiência de conversão, recuperação aparente de nitrogênio e composição bromatológica da silagem de cultivares de milho submetidos à adubação nitrogenada. <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/3109> 2013.

SODRÉ, L. F.; ASCÊNCIO, S. D.; PELUZIO, J. M.; AFFÉRI, F. S.; SANTOS, W. F.; CARVALHO, E. V. Cultivo para alto e baixo nitrogênio em genótipos de milho no Tocantins visando a produção de óleo. *Brazilian Journal of Agriculture-Revista de Agricultura*, v. 91, n. 2, p. 174-183, 2016.

SOUZA, S. Inoculante reduz uso de nitrogênio em milho e aumenta produtividade em mais de 100% Embrapa. Produção vegetal Fixação Biológica de Nitrogênio, 2019.

ZAIED, K.A. Rendimento e assimilação de nitrogênio em trigo de inverno inoculado com novos inoculantes recombinantes de rizobactéria. *Journal of Biological Sciences*, 2003.

CAPÍTULO II

Interação cultivar x ambiente na produtividade de espigas verdes em milho inoculado com *Azospirillum brasilense*, em baixa latitude

RESUMO

O cultivo do milho-verde tem sido cada vez mais importante para pequenos agricultores, em virtude de sua importância econômica e social, oriunda do consumo *in natura* na forma de espigas verdes. Neste sentido, a identificação de cultivares para este fim, aliado ao uso de novas tecnologias, tais como as bactérias fixadoras de nitrogênio, poderia resultar em incrementos nos atuais índices de produtividade, bem como promover uma racionalização no uso dos fertilizantes nitrogenados. O presente trabalho foi realizado visando estudar o desempenho de cultivares de milho, na presença e ausência da bactéria *Azospirillum brasilense*, sob diferentes doses de nitrogênio, visando a produtividade de espigas verdes em cultivo sob baixa latitude. Foram instalados dois ensaios, sendo um no ano agrícola 2019/20 e o outro no ano agrícola 2020/21, na região central do Estado do Tocantins. O delineamento experimental utilizado em cada ensaio foi de blocos casualizados, com três repetições. Os tratamentos foram dispostos em parcelas sub subdivididas, onde foram alocados nas parcelas os tratamentos envolvendo a inoculação de sementes com a bactéria *Azospirillum* (C Az) e sem inoculação de sementes (S Az), nas subparcelas cinco doses de nitrogênio (00, 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹ N) e nas sub subparcelas oito cultivares de milho. Para cada processo (C Az e S Az), foi realizado estudo de adaptabilidade e estabilidade pelo método de Eberhart & Russell

(1966) e estratificação ambiental pelo método de Lin (1982), onde a combinação de cada dose de N, em cada ensaio e em cada processo (C Az e S Az) representou um ambiente distinto. Houve resposta diferencial dos cultivares entre os processos com e sem a inoculação das sementes. A inoculação das sementes resultou em um maior acréscimo na produtividade de espigas verdes. O BRS-3046 e AG-1051 apresentaram ampla adaptação aos ambientes. Em virtude do comportamento diferencial dos cultivares, na presença e na ausência do *Azospirillum brasilense*, há a necessidade de novos estudos específico para cada processo.

Palavras-chave: *Zea mays*; Milho-verde; Segurança alimentar; Estratificação ambiental; Fixação natural N.

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) tem despertado grande interesse econômico em virtude das suas propriedades nutritivas, sendo utilizado na alimentação humana, principalmente na forma *in natura* como milho-verde (assado, cozido, mingau, pamonha, refogado e outros), o que tem impulsionado nas pequenas e médias propriedades o desenvolvimento social, econômico e cultural (REVOLTI, 2014; TAKAHASHI, 2014).

Para que se obtenha uma elevada produtividade de milho, a adubação nitrogenada é indispensável, uma vez que o nitrogênio é o nutriente mineral requerido em maior quantidade pela cultura, pois atua no crescimento radicular e no desenvolvimento vegetativo, participando diretamente na biossíntese de proteínas e clorofilas, que reflete em ganhos de produtividade (COELHO, 2006; CANTARELLA, 2014).

Em virtude do alto custo deste insumo, aliado ao risco ambiental, oriundo da aplicação de forma exagerada, há a necessidade de incorporar tecnologias para a racionalização e conscientização no uso dos fertilizantes nitrogenados (DARTORA et al., 2013). Neste sentido, uma das alternativas seria a utilização de bactérias diazotróficas capazes de disponibilizar o N atmosférico para a planta de milho, possibilitando crescimento da cultura e o incremento na produtividade de grãos (BARTCHECHEN et al., 2010; SOUZA, 2019), bem como reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados e o custo final de implantação da lavoura (REIS, 2007; REVOLTI, 2014).

Segundo Moreira et al. (2010), as bactérias diazotróficass podem contribuir para o crescimento vegetal através do fornecimento de nitrogênio, solubilização de fosfatos e aumento na atividade da redutase do nitrato (CASSAN et al., 2009). Além disso, essas bactérias podem resultar em alterações na morfologia do sistema radicular, no número de

radículas e diâmetro das raízes, provavelmente devido à produção de substâncias promotoras de crescimento: auxinas, giberelinas e citocininas (BASHAN & DE-BASHAN, 2010).

Aumentos em produtividade de grãos na cultura do milho quando inoculadas com *Azospirillum brasilense* foram observados em diversos estudos (BRACCINI et al., 2008; BARTCHECHEN et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2013; PORTUGAL et al., 2014; PIOVESAN, 2017). Para a produção de milho verde, Araújo et al. (2014), ao estudarem o efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense*, associado à adubação nitrogenada, verificaram aumento significativo no número e na massa das espigas comerciais com a inoculação de *A. brasilense*, em relação ao tratamento sem inoculação, e que a combinação de inoculação com *A. brasilense* e nitrogênio aumenta em mais de 30% a produção de espigas de milho verde.

Em uma série de ambientes representados por anos, locais, épocas de semeadura, diferentes formas de manejo, adubação e outros, pode ocorrer a interação cultivares x ambientes (C x A) dificultando o processo de seleção daqueles genótipos com características superiores. Visando atenuar o efeito desta interação, a identificação e o uso de genótipos com ampla adaptabilidade e estabilidade (Carvalho et al., 2013) e a identificação de ambientes similares, que torna o programa de melhoramento mais eficiente (CRUZ & REGAZZI, 2007), têm sido ferramentas utilizadas.

Neste sentido, o uso de cultivares de milho-verde com adaptabilidade e estabilidade específica aos diferentes ambientes, aliado ao uso de novas tecnologias, tais como as bactérias fixadoras de nitrogênio, poderiam resultar em incrementos nos atuais índices de produtividade, bem como promover uma racionalização no uso dos fertilizantes nitrogenados.

Contudo, apesar da importância econômica, social e de seu consumo *in natura* na forma de espigas verdes, são escassos os estudos envolvendo a cultura do milho-verde, para este fim. O trabalho foi realizado visando estudar o desempenho de cultivares de milho, na presença e ausência da bactéria *Azospirillum brasilense*, sob diferentes doses de nitrogênio, para produtividade de espigas verdes em cultivo sob baixa latitude.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na área experimental da Universidade Federal do Tocantins – UFT, campus de Palmas – TO (altitude de 230 m, latitude 10°12'54"S e longitude 48°20'02"W). Foram instalados dois experimentos, sendo a primeira época no ano agrícola

2019/20, em semeadura realizada em 04/12/2019, e a segunda época no ano agrícola 2020/21, em semeadura realizada em 10/12/2020.

O solo da área experimental, onde foram realizados os ensaios, de acordo com Sistema Brasileiro de Classificação de Solos é considerado como Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (DOS SANTOS, 2018). As amostras de solo coletadas a uma profundidade de 0 a 20 cm, apresentaram, em média, as seguintes características: pH(CaCl²) 6,0; Argila 15,5%; Silte 5,9%; Areia 78,6%; M.O 11,63 g dm⁻³; P (Mehlich⁻¹) 9,92 mg dm⁻³; K 0,2 cmol dm⁻³; Ca 1,90 cmol dm⁻³; Mg 1,12 cmol dm⁻³; S.B 3,22 cmol dm⁻³; CTC 5,02 cmol dm⁻³, e V 64,14%. Ressalta-se que os dois ensaios foram realizados em áreas adjacentes, no mesmo local.

Na Tabela 1, estão representados as médias de temperaturas e precipitações pluviométrica, registradas nos anos agrícolas 2019/2020 e 2020/2021 na estação experimental da UFT (INMET, 2020/2021).

Tabela 1. Médias de temperaturas (°C) e dados pluviométricos (mm), no período de condução dos ensaios, nas safras 2019/2020 e 2020/2021, em Palmas – TO.

Dados Climáticos				
Período	Safrá 2019/2020		2020/2021	
	Temp. média (°C)	Precipitação (mm)	Temp. média (°C)	Precipitação (mm)
Novembro	28,6 °C	197,8 mm	27,9 °C	51,8 mm
Dezembro	26,9 °C	298,0 mm	26,8 °C	258,0 mm
Janeiro	26,8 °C	307,9 mm	26,3 °C	348,8 mm
Fevereiro	26,9 °C	342,0 mm	24,2 °C	485,0 mm
Março	26,5 °C	420,0 mm	26,1 °C	511,0 mm
Média	27 °C	313,7 mm	26,4 °C	337,92 mm

Fonte: INMET (2019/2021).

O delineamento experimental utilizado, em cada ensaio, foi de blocos casualizados, com três repetições. Os tratamentos foram dispostos em parcelas subdivididas, onde foram alocados nas parcelas os tratamentos com inoculação de sementes com *Azospirillum* (C Az) e sem inoculação de sementes (S Az), nas subparcelas cinco doses de nitrogênio (00, 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹ N) e nas sub subparcelas oito cultivares de milho, sendo três híbridos simples (M-274, PR-27D28, AG 8088-PRO2), dois híbridos duplos (BRS-2022, AG-1051), dois híbridos triplos (BRS-3046, BM-3061) e uma variedade de polinização aberta (Anhembí), todos adquiridos nos comércio local. As parcelas experimentais foram constituídas por quatro fileiras, com 3,0 m de comprimento, espaçadas por 1,0 m totalizando uma área de 12,0 m².

O preparo do solo foi em cultivo convencional, sem necessidade de calagem. Na semeadura foi realizada adubação no sulco com 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, e 48 kg ha⁻¹ de K₂O de cloreto de potássio. O manejo adotado levou se em consideração agricultura familiar e baixo

investimento tecnológico, ou seja, a adubação de base, e as doses de N foram menores que a recomendada para o cultivo convencional do milho (120 a 150 kg ha⁻¹ N).

A semeadura foi realizada direto no sulco, e as sementes foram inoculadas 30 minutos antes do plantio com a bactéria *Azospirillum brasilense* (AbV5 e AbV6), sendo 100ml do inoculante para cada 25 kg de sementes de milho, conforme preconizado pelo fabricante. A densidade populacional foi 50 mil plantas por hectare (PAIVA JUNIOR, 2001).

O controle de plantas daninhas foi realizado fazendo uso de herbicida pós-emergente específico para cultura do milho, (Soberan, Nicon/Nicossulfouran e Peroleo) dose de 100 ml, por bomba de 20 litros. Não foi necessário o controle pragas e doenças. A adubação de cobertura foi realizada com sulfato de amônia (21% de N), nas doses (00, 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹ N), nas entrelinhas das parcelas, sendo metade aplicada no estágio V4 e metade em V8 (quatro e oito folhas verdadeiras, respectivamente) (RITCHIE et al., 2003).

Com base na área útil da parcela (duas fileiras centrais), foram coletadas espigas verdes à medida que os grãos se encontravam entre os estádios de grão leitoso (grão com cerca de 80% de umidade) e de grão pastoso (MAGALHÃES, SOUZA, RODRIGUES, 2011). Em seguida, as espigas foram despalhadas e o peso de cada parcela convertido em kg ha⁻¹.

Após a obtenção dos dados de produtividade das espigas verdes, foram realizadas análises estatísticas para cada processo, ou seja, para o processo com inoculação das sementes com *Azospirillum* (C Az) e, também para o processo sem inoculação das sementes (S Az). Inicialmente, foi realizada análise de variância individual e, posteriormente, análise conjunta dos ensaios, em que o menor quadrado médio residual não diferiu em mais de sete vezes do maior. Em seguida, para cada processo, foram realizadas análises de adaptabilidade e estabilidade segundo Eberhart e Russel (1966), bem como a estratificação ambiental segundo o método de agrupamento de ambientes com base no algoritmo de Lin (1982).

Na análise estatística, em cada processo, a combinação de cada dose de N (kg ha⁻¹) em cada um dos ensaios (época de semeadura), representou um ambiente distinto. Assim, para cada processo (C Az e S Az), foram obtidos dez ambientes oriundos da combinação das cinco doses de N com os dois ensaios, conforme representados na Tabela 2.

Tabela 2. Ambientes oriundos da combinação de dois ensaios (épocas de semeadura) e cinco doses de nitrogênio em cobertura (kg por ha⁻¹) nos processos de inoculação das sementes (C Az e S Az) para produtividade de espigas verdes, em Palmas – TO.

Ambientes	Época 1	Dose N	Ambientes	Época 2	Dose N
1	04/12/2019	00	6	10/12/2020	00
2	04/12/2019	30	7	10/12/2020	30
3	04/12/2019	60	8	10/12/2020	60
4	04/12/2019	90	9	10/12/2020	90
5	04/12/2019	120	10	10/12/2020	120

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico computacional Genes (CRUZ, 2013).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o processo sem inoculação das sementes (S Az) a análise de variância conjunta apresentou efeito significativo de ambiente, da interação cultivares x ambientes, e efeito não significativo para os cultivares. Por outro lado, para o processo com inoculação das sementes (C Az) houve efeito significativo para cultivares, ambientes, e cultivares x ambientes (Tabela 3).

O efeito significativo de cultivares, apenas para o processo com inoculação das sementes processo (C Az), indica que a bactéria foi capaz de promover condições para a diferenciação dos cultivares. Segundo Hungria (2011) os efeitos da inoculação de sementes de milho sobre o rendimento de grãos dependem das características genéticas das plantas, das estirpes e das condições de ambiente. Para Quadros et al. (2014), o sucesso da inoculação será em função do local, tipo de solo, clima da região e genótipo das plantas.

Os coeficientes de variação (CV) obtidos foram 2,97% a 3,49% (S Az e C Az) respectivamente (Tabela 3) e estão em conformidade com os estudos realizados por Gurgel; Ferreira e Soares (2013) em experimentos de milho.

Tabela 3. Resumo da análise de variância conjunta para produção de espigas verdes, em dois processos de inoculação das sementes S Az e C Az, e em oito cultivares de milho submetidos a cinco níveis de N, nos anos agrícolas de 2019/20 e 2020/21. Palmas – TO.

Fonte Variação	GL		QM	
			S Az Época 1 e 2	C Az Época 1 e 2
Blocos/Ambiente	18	18	37066	97448
Cultivares	7	7	2456682 ^{ns}	6674529 [*]
Ambientes	9	9	83624940 ^{**}	43307681 ^{**}
Cult. x Amb.	47	44	1828492 ^{**}	2194987 ^{**}
Resíduo	101	93	64984	98807
CV (%)			2,97	3,49
Média Geral			8.571	9.006

ns, **, *: não significativos e significativos a 1% e 5%, respectivamente, pelo teste F.
Fonte: SISVAR (FERREIRA, 2011).

Para a grande maioria dos pares dos ambientes, em ambos os processos, a interação foi do tipo complexa (% FC) (Tabela 4), indicando que os cultivares apresentam comportamentos diferenciados em função dos fatores ambientais oriundos de anos e/ou doses de N distintas. Assim, procedeu-se estudos de estabilidade, adaptabilidade e estratificação ambiental.

Quando a fração do tipo complexa (%FC) tem um peso muito grande sobre a interação cultivares x ambientes, fica evidente a grande diferença entre ambientes e reforça o quanto se faz necessário a avaliação dos cultivares em diversas condições (CARVALHO et al., 2013).

Tabela 4. Estimativas da fração simples (%FS) e complexa (%FC) da interação cultivar x ambientes, entre os pares de ambientes de avaliação, em dois processos de inoculação das sementes S Az e C Az, avaliadas para produtividade de espigas verdes, em dez ambientes, segundo o método de Cruz & Castoldi (1991).

S Az			C Az		
Par	%FS	% FC	Par	%FS	% FC
1 x 2	-4,24	104,24	1 x 2	-15,52	115,52
1 x 3	0,85	99,14	1 x 3	-8,51	108,51
1 x 4	-11,95	111,95	1 x 4	6,11	93,89
1 x 5	-4,23	104,23	1 x 5	18,57	81,43
1 x 6	1,93	98,07	1 x 6	4,89	95,11
1 x 7	-24,72	124,73	1 x 7	-18,37	118,37
1 x 8	-20,16	120,16	1 x 8	-19,89	119,89
1 x 9	-26,00	126,00	1 x 9	-23,89	123,89
1 x 10	-29,99	129,99	1 x 10	-28,95	128,95
2 x 3	32,78	67,22	2 x 3	24,29	75,71
2 x 4	0,27	99,73	2 x 4	13,26	86,74
2 x 5	8,79	91,21	2 x 5	18,94	81,06
2 x 6	29,05	70,95	2 x 6	19,56	80,44
2 x 7	43,89	56,11	2 x 7	28,03	71,97
2 x 8	7,04	92,96	2 x 8	35,65	64,35
2 x 9	8,59	91,41	2 x 9	32,46	67,54
2 x 10	15,46	84,54	2 x 10	25,69	74,31
3 x 4	-15,02	115,02	3 x 4	30,42	69,58
3 x 5	33,99	66,01	3 x 5	12,43	87,57
3 x 6	10,84	89,16	3 x 6	29,52	70,48
3 x 7	19,45	80,55	3 x 7	50,27	49,73
3 x 8	14,44	85,56	3 x 8	44,46	55,54
3 x 9	0,04	99,96	3 x 9	48,25	51,75
3 x 10	4,98	95,02	3 x 10	40,86	59,14
4 x 5	-9,39	109,39	4 x 5	72,78	27,22
4 x 6	4,34	95,66	4 x 6	-7,47	107,47
4 x 7	21,49	78,52	4 x 7	-4,71	104,71
4 x 8	35,13	64,87	4 x 8	-0,12	100,12

4 x 9	49,19	50,81	4 x 9	6,78	93,22
4 x 10	30,31	69,69	4 x 10	-3,69	103,69
5 x 6	9,32	90,68	5 x 6	6,91	93,09
5 x 7	2,63	97,37	5 x 7	-6,70	106,70
5 x 8	10,63	89,37	5 x 8	-5,07	105,07
5 x 9	-8,25	108,25	5 x 9	2,69	97,32
5 x 10	-13,00	113,00	5 x 10	-7,95	107,95
6 x 7	40,65	59,35	6 x 7	37,38	62,62
6 x 8	19,99	80,01	6 x 8	43,21	56,79
6 x 9	24,97	75,03	6 x 9	23,60	76,40
6 x 10	39,46	60,54	6 x 10	43,37	56,63
7 x 8	42,59	57,41	7 x 8	83,18	16,82
7 x 9	51,89	48,11	7 x 9	72,43	27,57
7 x 10	56,52	43,48	7 x 10	55,48	44,52
8 x 9	67,56	32,44	8 x 9	76,37	23,63
8 x 10	40,69	59,31	8 x 10	68,63	31,37
9 x 10	62,50	37,50	9 x 10	60,65	39,35

S Az: sem inoculação das sementes; C Az: com inoculação das sementes, Ambientes: Primeira Época (1, 00 kg ha⁻¹ N; 2, 30 kg ha⁻¹ N; 3, 60 kg ha⁻¹ N; 4, 90 kg ha⁻¹ N, e 5, 120 kg ha⁻¹ N); Segunda Época (6, 00 kg ha⁻¹ N; 7, 30 kg ha⁻¹ N; 8, 60 kg ha⁻¹ N; 9, 90 kg ha⁻¹ N, e 10, 120 kg ha⁻¹ N), anos agrícolas 2019/20 e 2020/21.

O índice ambiental, para os dois processos (S Az e C Az) avaliados nos dez ambientes são apresentados na Tabela 5. Pelo método de Eberhart e Russel (1966), ambiente favorável é aquele em que a sua média é superior à média geral de todos os ambientes estudados, resultando em índice positivo. Por outro lado, ambiente desfavorável é aquele cuja sua média é inferior à média geral, sendo assim índice negativo.

No ano agrícola 2019/20, todos os ambientes (ambientes de 1 a 5) sem *Azospirillum* (S Az) e com *Azospirillum* (C Az), foram classificados como desfavoráveis. Já no ano agrícola 2020/21, todos os ambientes (ambientes 6 a 10), para os processos (S Az) e (C Az), foram classificados como favoráveis. Assim, dentro de cada processo em cada um dos anos agrícolas, as doses de N utilizadas em cobertura (30, 60, 90 e 120 kg de N ha⁻¹) não foram capazes de provocar mudanças na classificação dos ambientes, de modo que a classificação dos mesmos, em favoráveis e desfavoráveis ocorreu, principalmente, em função de flutuações climáticas entre os anos agrícolas.

No ano agrícola 2020/21, os ambientes foram classificados como favoráveis em virtude, principalmente, da ocorrência de chuvas mais regulares na fase de enchimento dos

grãos (fevereiro de 2021) (Tabela 1), quando comparados com os ambientes oriundos do ano agrícola 2019/20.

A ocorrência de menor disponibilidade de água, durante a fase de enchimento dos grãos, promove alterações nas rotas metabólicas (NAOE et al., 2020), reduzindo o número de grãos por m², o número de espigas por m² (SOUSA et al., 2015), comprimento de internódios, a capacidade de armazenagem de açúcares no colmo, além de resultar em colmos mais finos, plantas de menor porte e menor área foliar, que pode prejudicar o desenvolvimento das plantas (MAGALHÃES & DURÃES, 2006)

Em todos os ambientes (1 a 10), quer seja favorável ou desfavorável, a inoculação das sementes (C Az), promoveu um maior ganho na produtividade de espigas verdes. Tal fato pode ter ocorrido em função de as bactérias diazotróficas contribuírem para o crescimento vegetal, através do fornecimento de nitrogênio via fixação simbiótica (MOREIRA et al., 2010) e de promoverem incremento na disponibilidade de N proveniente da adubação mineral para as plantas, através da incorporação do nitrogênio inorgânico em moléculas complexas, oriundo do aumento na atividade da enzima redutase do nitrato (CASSAN et al., 2009).

Além disso, essas bactérias podem resultar em alterações na morfologia do sistema radicular, no número de radículas e diâmetro das raízes, provavelmente devido à produção de substâncias promotoras de crescimento (auxinas, giberelinas e citocininas) (PEDRINHO, 2009). Assim, com o uso destas bactérias, seria possível reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados, diminuindo o custo de produção e a contaminação do ambiente oriundo da lixiviação deste elemento (REIS, 2007; REVOLTI, 2014).

Chavarria e De Melo (2011), relatam que a utilização de microrganismos (FBN) nas práticas agrícolas tem se tornado crescente, já que a adubação nitrogenada representa elemento importante nos custos de produção, diminui danos ambientais e a redução do efeito estufa.

Aumentos em produtividade de grãos na cultura do milho quando inoculadas com *Azospirillum brasilense* foram observados em diversos estudos (BRACCINI et al., 2008; BARTCHECHEN et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2013; PORTUGAL et al., 2014; PIOVESAN, 2017).

Tabela 5. Índice ambiental (Ij) de dez ambientes, para produtividade de espigas verdes (kg ha⁻¹), nos processos sem inoculação das sementes (S Az) e com inoculação das sementes (C Az), segundo método de Eberhart & Russell (1966), nos anos agrícolas 2019/20 e 2020/21, em Palmas – TO.

Ambiente	S Az		C Az	
	Média	Índice (Ij)	Média	Índice (Ij)
1	6.140	-2431	8.258	-748
2	6.565	-2006	7.218	-1788
3	7.532	-1039	7.592	-1414

4	6.906	-1926	7.241	-1765
5	8.094	-477	8.422	-584
6	8.966	395	9.274	268
7	9.947	1376	10.136	1130
8	10.152	1581	10.304	1298
9	10.354	1783	10.484	1478
10	11.050	2479	11.130	2124
Média Geral	8.571	---	9.006	---

Ambientes: Ano Agrícola 2019/20, semeadura em 04/12/2019: (Amb. 1, 00 kg ha⁻¹ N; Amb. 2, 30 kg ha⁻¹ N; Amb. 3, 60 kg ha⁻¹ N; Amb. 4, 90 kg ha⁻¹ N, e Amb. 5, 120 kg ha⁻¹ N). Ano Agrícola 2020/21, semeadura em 10/12/2020: (Amb. 6, 00 kg ha⁻¹ N; Amb. 7, 30 kg ha⁻¹ N; Amb. 8, 60 kg ha⁻¹ N; Amb. 9, 90 kg ha⁻¹ N, e Amb. 10, 120 kg ha⁻¹ N).

As médias e os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de cada cultivar, para cada um dos processos (S Az e C Az) para a produtividade de espigas verdes, pelo método de Eberhart e Russell (1966), estão representados na Tabela 6.

Todos os cultivares apresentaram desvios da regressão significativos ($S^2d \neq 0$), em ambos os processos (S Az e C Az), indicando a não previsibilidade de comportamento (instabilidade), ou seja, apresentam variações na produtividade de espigas verdes em função do ambiente.

Os cultivares BRS-3046 e AG-1051, nos processos S Az e C Az, apresentaram coeficiente de regressão maior que a unidade ($\beta_1 > 1$) e média superior à média geral do grupo, sendo consideradas adaptados aos ambientes favoráveis, ou seja, onde o nível tecnológico empregado seja alto.

AG 8088-PRO2 e BRS-2022, por sua vez, em ambos os processos, apresentaram adaptação específica aos ambientes desfavoráveis ($\beta_1 < 1$), ou seja, com baixo investimento em tecnologia de cultivo. Neste ambiente, entretanto, apenas o cultivar AG 8088-PRO2, no processo S Az, apresentou média superior à média geral, podendo ser classificado como bem adaptada.

Os demais cultivares apresentaram classificações distintas quando comparados os diferentes processos de inoculação (S Az e C Az), indicando comportamento diferencial dos mesmos quando submetidos aos diferentes processos de inoculação das sementes. Assim, enquanto PR-27D28 apresentou $\beta_1 < 1$, no processo S Az, e $\beta_1 > 1$, no processo C Az; BM-3061 apresentou $\beta_1 > 1$, no processo S Az, e $\beta_1 < 1$, no processo C Az. Por outro lado, M-274, apresentou β_1 não diferindo da unidade, no processo S Az, e $\beta_1 < 1$, no processo C Az e; Anhembi apresentou $\beta_1 < 1$, no processo S Az, e β_1 não diferindo da unidade, no processo C Az.

Os Cultivares M-274, no processo S Az, e Anhembi, no processo C Az, apresentaram coeficiente de regressão igual à unidade ($\beta_1 = 1$), ou seja, mostraram-se adaptados aos ambientes favoráveis e desfavoráveis. Destes, M-274 apresentou média de produtividade acima da média geral. Esses cultivares são responsivos a melhoria do ambiente,

porém necessitam de um posicionamento adequado, pois se cultivadas em ambientes desfavoráveis, onde o nível tecnológico é baixo e enfrentam condições climáticas adversas, normalmente apresentam redução na produtividade (FARIA et al., 2018).

Revolti (2014) revelou não ser possível generalizar a recomendação da forma mais adequada de inoculação, visto que ocorre interação genótipo x formas de inoculação. Assim trabalhos visando avaliar cultivares de milho para produtividade de espigas verdes, se faz necessário fazendo uso de inoculação das sementes C Az ou S Az.

Já Quadros et al. (2014), ao avaliarem o desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense*, verificaram efeito da interação entre híbridos e tratamentos sobre a produtividade, indicando que a inoculação pode ser mais eficiente em determinados híbridos. Segundo estes autores, o benefício da inoculação, dependendo do genótipo do milho, podem ser observados em diferentes partes da planta, como grãos, parte aérea ou colmo.

Tabela 6. Parâmetros de Adaptabilidade (B_1) e estabilidade (S^2d), para produtividade de espigas verdes (kg ha^{-1}), em oito cultivares de milho, segundo método de Eberhart & Russell (1966), nos anos agrícolas 2019/20 e 2020/21, em Palmas – TO.

Cultivar	S Az			C Az		
	Médias	β_1	$s^2 d$	Médias	β_1	$s^2 d$
BRS-3046	8.926	1,16**	472407**	9.716	1,33**	287478**
Anhembi	8.431	0,85**	166164**	8.316	1,00ns	431036**
M-274	8.637	1,00ns	228198**	8.890	0,70**	384264**
PR-27D28	8.147	0,79**	116181**	8.568	1,19**	236571**
BRS-2022	8.382	0,91*	293953**	8.814	0,88*	135527**
BM-3061	8.425	1,19**	281028**	9.457	0,79**	332616**
AG-1051	9.000	1,14**	266382**	9.360	1,34**	420721**
AG 8088-PRO2	8.621	0,95*	100670**	8.928	0,78**	683710**
Média Geral	8.571	----		9.006	----	

B_1 = Coeficiente da regressão; S^2d = desvios da regressão; **, *, ns= significativo a 1%, 5% e não significativo respectivamente pelo teste t.

Os resultados dos agrupamentos dos ambientes, segundo método de Lin (1982) (Tabela 7), para o processo C Az, revelou a formação de um unico grupo composto pelos ambientes 7 (semeadura 10/12/20, 30 kg ha^{-1} N) e 9 (semeadura 10/12/20, 90 kg ha^{-1} N). Neste caso, visando a otimização de recursos humanos e financeiros em programas de melhoramento, seria possível conduzir apenas o ensaio com a menor adubação nitrogenada, ou seja, de 30 kg de N ha^{-1} .

Por outro lado, na ausência do *Azospirillum brasilense* (S Az), nenhum grupo com ambiente similar foi formado (Tabela 7). Portanto, pode-se inferir que as doses de N

utilizadas (00, 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹ N) e os fatores climáticos (precipitação e temperatura), oriundos dos diferentes anos agrícolas, promoveram mudanças significativas nos ambientes. Desta forma, para esta característica S Az, recomenda-se a condução de um maior número de ensaios representados pela combinação de anos com doses distintas de N em cobertura.

Tabela 7. Agrupamento dos dez ambientes de avaliação para produtividade de espigas verdes (kg ha⁻¹), pelo método de Lin (1982), nos anos agrícolas 2019/20 e 2020/21, em Palmas – TO.

S Az		C Az	
Grupo	Ambientes	Grupo	Ambientes
I	---	I	7; 9

Ambientes: Ensaio Primeira Época (Amb. 1, 00 kg ha⁻¹ N; Amb. 2, 30 kg ha⁻¹ N; Amb. 3, 60 kg ha⁻¹ N; Amb. 4, 90 kg ha⁻¹ N, e Amb. 5, 120 kg ha⁻¹ N), em 04/12/2019. Ensaio Segunda Época (Amb. 6, 00 kg ha⁻¹ N; Amb. 7, 30 kg ha⁻¹ N; Amb. 8, 60 kg ha⁻¹ N; Amb. 9, 90 kg ha⁻¹ N, e Amb. 10, 120 kg ha⁻¹ N, em 10/12/2020.

4 CONCLUSÕES

Houve resposta diferencial dos cultivares entre os processos com e sem a inoculação das sementes;

A inoculação das sementes resultou em um maior acréscimo na produtividade de espigas verdes;

BRS-3046 e AG-1051 apresentaram ampla adaptação aos ambientes, em ambos os processos (C Az e S Az);

A inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* poderá se tornar uma alternativa viável na redução do uso de fertilizantes nitrogenados em regiões sob baixa latitude, sendo importante novos estudos.

REFERÊNCIAS

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

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

BRACCINI, A.L.; ÁVILA, M.R.; ALBRECHT, L.P.; CATO, S.C.; BARBOSA, M.C. Eficiência da inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. na cultura do milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 27, 2008, Sete Lagoas. ABMS - Associação Brasileira de Milho e Sorgo, p. 1-1, 2008.

CANTARELLA, A. P. D. H. Nitrogênio em milho: oferta harmônica. Revista cultivar grandes culturas n.177, p 06-08, 2014.

CARVALHO, E. V. de; Afféri, F. S.; Dotto, M. A.; Peluzio, J. M.; Cancelier, L. L.; Santos, W. F. dos. Adaptability and stability of corn hybrids in Tocantins. *Journal Biotechnology Biodiversity*, v. 4, N.1: pp. 25-31, Feb. 2013.

CASSAN, Fabricio et al. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of soil biology*, v. 45, n. 1, p. 28-35, 2009.

CHAVARRIA, G.; DE MELLO, N. Bactérias do gênero *Azospirillum* e sua relação com gramíneas. *Revista Plantio Direto*, v. 125, 2011.

COELHO, A.M. Nutrição e Adubação do Milho. Circular Técnica n.78 Embrapa 2006. Consulta online, acesso em 18/06/2021.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa, MG: Imprensa Universitária, 480p., 2007.

CRUZ, C.D; Castoldi, F.L. Decomposição da interação genótipos ambientes em partes simples e complexa. *Revista Ceres*, 38:422-430, 1991.

CRUZ, Cosme Damião. GENES: software para análise de dados em estatística experimental e em genética quantitativa. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 17, p. 1023-1029, 2013.

DOS SANTOS, Humberto Gonçalves et al. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

EBERHART, S. A.; Russel, W. A. Stability parameters for comparing varieties. *Crop science*, v. 6, n. 1, p. 36-40, 1966.

FARIA, L.A.; Peluzio, J.M.; Santos, W.F.; Souza, C.M.; Colombo, G.A.; Afféri, F.S. Oil and protein content in the grain of soybean cultivars at different sowing seasons. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.13, n.2, p1-7, 2018.

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

GUIMARÃES, L. S.; MOREIRA, J. C. F.; BONFIM-SILVA, E. M.; POLIZEL, A. C.; SABINO, D. C. C. Características produtivas de plantas de milho inoculadas com *Azospirillum* spp. cultivadas em latossolo de cerrado. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 9, n. 16; p. 558-567, 2013.

GURGEL, F. de L.; FERREIRA, D. F.; SOARES, ACS. O coeficiente de variação como critério de avaliação em experimentos de milho e feijão. *Embrapa Amazônia Oriental-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)*, 2013.

[HTTPS://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1094003](https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1094003). EMBRAPA Solos 2018.

HUNGRIA M., Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011.

INMET: http://sisdagro.inmet.gov.br/sisdagro/app/monitoramento/bhc_consultas em 2020/2021.

LIN, C.S. Grouping genotypes by a cluster method directly related to genotype-environment interaction mean-square. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 62, n. 3, p. 277-280, <http://dx.doi.org/10.1007/BF00276251>, 1982.

MAGALHÃES, Paulo C.; DURÃES, Frederico OM. Fisiologia da produção de milho. Embrapa Milho e Sorgo-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2006.

MAGALHÃES, Paulo César; SOUZA, TC de; RODRIGUES, J. A. Cultivo do Milho, Embrapa Milho e Sorgo, Sistema de Produção nº. 1, 2011. Consulta online (julho 2021). <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27330/1/Ecofisiologia.pdf>

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

NAOE, Alessandra M. de L. et al. Coinoculação com *Azospirillum brasilense* em cultivares de soja submetidas a deficit hídrico. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 24, n. 2, p. 89-94, 2020.

PAIVA JUNIOR, M. C.; PINHO, R. G. von; PINHO, E. V. R. von; RESENDE, S. G.. Desempenho de cultivares para a produção de milho verde em diferentes épocas e densidades de semeadura em Lavras-MG. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 25, n. 5, p.1235-1247. 2001.

PEDRINHO, E. A. N. Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento em milho (*Zea mays* L.). 2009. 87p. Tese (Doutorado em Microbiologia) -Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.

PIOVESAN, Felipe. Produção de biomassa de aveia preta inoculada por *Azospirillum brasiliense*. 2017.

PORTUGAL, J. R.; ARF O.; LONGUI, W. V., GITTI, D. C.; BARBIERI, M. K. F.; GONZAGA, A. R.; TEIXEIRA, D. S. Inoculação com *Azospirillum brasilense* via foliar associada à doses de nitrogênio em cobertura na cultura do milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29, 2012. Disponível em: <http://www.abms.org.br/29cn_milho/06298.pdf>. Acesso em: 3 abr. 2014.

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

RAUL MATOS ARAÚJOADEMIR SÉRGIO FERREIRA DE ARAÚJOLUÍS ALFREDO PINHEIRO LEAL NUNESMARCIA DO VALE BARRETO FIGUEIREDO et al. Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. *Ciência Rural*, v. 44, p. 1556-1560, 2014.

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

REVOLTI, Lucas Tadeu Mazza. Interação genótipo vs formas de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho. 2014.

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. Piracicaba: Potafos, 2003.

SOUSA, RS de et al. Desempenho produtivo de genótipos de milho sob déficit hídrico. Embrapa Meio-Norte-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2015.

SOUZA, S. Inoculante reduz uso de nitrogênio em milho e aumenta produtividade em mais de 100% Embrapa. 2019.

TAKAHASHI, Alexandre. Interação genótipo x ambiente para produção de grãos e podridões de colmo em milho. 2014.

CAPÍTULO III

Análise de trilha entre características de milho verde inoculado com *Azospirillum brasilense*, sob diferentes doses de nitrogênio

RESUMO

O conhecimento dos efeitos diretos e indiretos entre as características são de grande importância para auxiliar nas relações entre essas características, e tem sido de grande relevância para programas de melhoramento vegetal. Assim o presente trabalho foi realizado com o objetivo de estudar a análise de trilha entre as características morfoagronômicas de cultivares de milho, na presença ou não de inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, associada a baixo e alto N, para a produtividade de espigas verdes. Foram instalados dois ensaios, nos anos agrícolas 2019/20 e 2020/21 em semeaduras realizadas em 04/12/2019 e 10/12/2020 respectivamente, na Universidade Federal do Tocantins, Palmas-TO. Em cada ensaio, o delineamento experimental foi de blocos casualizados, com três repetições, sendo os tratamentos dispostos em parcelas subdivididas, onde foram alocados nas parcelas os tratamentos envolvendo os processos com inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* (C Az) e sem inoculação de sementes (S Az), nas subparcelas foram alocadas duas doses de nitrogênio (30 e 120 kg ha⁻¹ N), consideradas como baixo e alto N, respectivamente, e nas subsub parcelas oito cultivares de milho. Foram utilizadas seis características

morfoagronômicas: altura de plantas (AP), comprimento de raízes (CR), largura de raízes (LR), peso de raízes (PR), comprimento de espigas despalhadas (CED), diâmetro de espigas despalhadas (DED) e produtividade de espigas despalhadas (PREV). Foi realizada análise de variância individual em cada ensaio e, posteriormente, a análise conjunta. Em seguida, para cada processo (S Az) e (C Az), tanto em baixo N ($30 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$) quanto em alto N ($120 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$), foram estimados os coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as características com a produtividade de espigas verdes (PREV) e a análise de trilha. Houve efeito da adubação nitrogenada e da bactéria *Azospirillum brasilense* na magnitude dos efeitos diretos e indiretos das características sobre a PREV. A seleção de plantas mais altas, em alto N, com C Az e S Az, e em baixo N, S Az, favorece ao aumento na PREV. Em baixo N, sem *Azospirillum*, o PR, poderia ser utilizado visando incrementos na PREV. Demais trabalhos sob alto e baixo N, com *Azospirillum brasilense*, poderá resultar em ganhos na PREV, e menor custo na lavoura, com menos risco ambiental.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; Características morfoagronômicas; Agricultura familiar; Fixação Natural; Nitrogênio.

1 INTRODUÇÃO

O milho-verde, que pode ser consumido *in natura* (cozido ou assado, processado para fazer curau, pamonha e suco e, ainda, como ingredientes para fabricação de bolos, biscoitos, sorvetes e uma série de outros tipos de alimentos), tem seu cultivo concentrado, principalmente, por pequenos e médios produtores, que tem sido os principais responsáveis por colocar o produto no mercado (PEREIRA FILHO, 2002; ENTRINGER et al., 2014; DIAS et al., 2018; DE CARVALHO MATOS et al., 2017).

O baixo o nível tecnológico empregado, tais como o uso de poucos insumos (em especial adubação com nitrogênio, fosforo, e potássio), cultivares pouco produtivos e não adaptados às condições regionais de cultivo, resulta em baixa produtividade da cultura no país (DE CARVALHO MATOS et al., 2017).

Dentre os nutrientes, o nitrogênio é o mais exigido e absorvido na cultura do milho, sendo essencial para a biossíntese de proteína, enzimas e clorofila, desde os estádios fenológicos iniciais da cultura, promovendo influência direta no crescimento e desenvolvimento, que resulta em incrementos na produtividade (DUETE et al., 2008; SANTOS et al., 2013; DE CARVALHO MATOS et al., 2017).

O aumento da demanda por fertilizantes nitrogenados, aliado ao seu elevado custo, tem direcionado as pesquisas para o processo de fixação natural (HUNGRIA, 2011). Dentre estas, estudos envolvendo inoculação das sementes com *Azospirillum* tem sido realizado com objetivo identificar seu potencial de colonizar raízes e colmos das plantas, uma vez que promovem a fixação biológica de nitrogênio, podendo reduzir a utilização de fertilizantes nitrogenados sintéticos na cultura do milho (REIS JÚNIOR et al., 2008) e por atuarem como bioestimulante para o crescimento vegetal, através da produção de fitohormônios, como auxinas, citocininas e giberilinas (PIOVESAN, 2017).

No trabalho realizado por Moreira (2019), foi observado que inoculação de *Azospirillum brasilense* em milho, proporciona diferentes respostas à cultura, dependendo da forma de utilização e dose de N. Segundo o autor, essa prática não substitui totalmente a utilização do adubo nitrogenado em cobertura, porém, a aplicação em associação com a bactéria apresenta maior produtividade e melhor relação custo-benefício.

A produtividade de milho-verde é um caráter complexo, ou seja, influenciado por várias características tais como: o peso médio de espiga, o comprimento médio das espigas, o diâmetro médio das espigas, o tamanho do grão, e outras, de modo que a identificação de características de produção que apresentem maior contribuição sobre a produtividade de espigas comerciais é importante e pode auxiliar na seleção de genótipos superiores de interesse econômico (ENTRINGER et al., 2014). Neste sentido, o conhecimento das correlações fenotípicas, genotípicas, ambientais e o inter-relacionamento entre essas características se tornaram muito importantes (CRUZ, CARNEIRO & REGAZZI, 2014).

Estudos de correlação permite avaliar a magnitude e o sentido da associação entre duas ou mais características, em uma ou mais condição experimental, porem não fornece informações sobre as causas e efeitos envolvidos nas associações entre as características. A análise de trilha proposto por Wright (1921), têm sido utilizado pelos pesquisadores, para observar o desdobramento das correlações estimadas em efeitos diretos e indiretos das características, que são influenciadas por uma variável básica e/ou principal.

Inúmeros trabalhos envolvendo análises de trilha tem sido realizados nas culturas do amendoim (LUZ et al., 2011), cana de açúcar (BRASILEIRO et al., 2013), feijão (CARGNELUTTI FILHO et al., 2011), goiabeira (DONAZZOLO et al., 2017), milho (DUTRA et al., 2016), pinhão-manso (TEODORO et al., 2016), seringueira (AGUIAR et al., 2010), soja associada com *Azospirillum brasilense* dentre outras (NAOE, et al., 2020).

O trabalho foi realizado com o objetivo de verificar por meio de análise de trilha o grau de associação entre as características morfoagronômicas em cultivares de milho, na

presença ou não de inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, associada a baixo e alto N, para a produtividade de espigas verdes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na área experimental da Universidade Federal do Tocantins – UFT, campus de Palmas – TO (altitude de 230 m, latitude 10°12'54"S e longitude 48°20'02"W). Foram instalados dois ensaios, sendo a primeira época no ano agrícola 2019/20, em semeadura realizada em 04/12/2019, e a segunda época no ano agrícola 2020/21, em semeadura realizada em 10/12/2020.

O solo da área experimental, de acordo com Sistema Brasileiro de Classificação de Solos é considerado como Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (DOS SANTOS, 2018). As amostras de solo coletadas a uma profundidade de 0 a 20 cm, e suas análises químicas revelaram as características: pH(CaCl²) 6,0; Argila 15,5%; Silte 5,9%; Areia 78,6%; M.O 11,63 g dm⁻³; P (Mehlich⁻¹) 9,92 mg dm⁻³; K 0,2 cmol dm⁻³; Ca 1,90 cmol dm⁻³; Mg 1,12 cmol dm⁻³; S.B 3,22 cmol dm⁻³; CTC 5,02 cmol dm⁻³, e V 64,14%. Ressalta-se que os dois ensaios foram realizados em áreas adjacentes, no mesmo local.

Na Tabela 1, estão representados as médias de temperaturas e precipitações pluviométrica, registradas nos anos agrícolas 2019/2020 e 2020/2021 na estação experimental da UFT.

Tabela 1 - Médias de temperaturas (°C) e dados pluviométricos (mm), no período de condução dos ensaios, nas safras 2019/2020 e 2020/2021, em Palmas – TO.

Dados Climáticos				
Período	Safrá 2019/2020		2020/2021	
	Temp. média (°C)	Precipitação (mm)	Temp. média (°C)	Precipitação (mm)
Novembro	28,6 °C	197,8 mm	27,9 °C	51,8 mm
Dezembro	26,9 °C	298,0 mm	26,8 °C	258,0 mm
Janeiro	26,8 °C	307,9 mm	26,3 °C	348,8 mm
Fevereiro	26,9 °C	342,0mm	24,2 °C	485,0 mm
Março	26,5 °C	420,0 mm	26,1 °C	511,0 mm
Média	27 °C	313,7 mm	26,4 °C	337,92 mm

Fonte: INMET (2019/2021).

O delineamento experimental utilizado, em cada ensaio, foi de blocos casualizados, com três repetições. Os tratamentos foram dispostos em parcelas subdivididas, onde foram alocados nas parcelas os tratamentos com inoculação de sementes com *Azospirillum* (C Az) e sem inoculação de sementes (S Az), nas subparcelas duas doses de nitrogênio (30 e 120 kg ha⁻¹ N, consideradas como baixo e alto N, respectivamente, segundo Coelho (2007), e nas subsub parcelas oito cultivares de milho, sendo três híbridos

simples (M-274, PR-27D28, AG 8088-PRO2), dois híbridos duplos (BRS-2022, AG-1051), dois híbridos triplos (BRS-3046, BM-3061) e uma variedade de polinização aberta (Anhembí), todos adquiridos no comércio local e cultivadas na região. As parcelas experimentais foram constituídas por quatro fileiras, com 3,0 m de comprimento, espaçadas por 1,0 m totalizando uma área de 12,0 m².

O preparo do solo foi em cultivo convencional, sem necessidade de calagem. Na semeadura foi realizada adubação no sulco com 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, e 48 kg ha⁻¹ de K₂O de cloreto de potássio. O manejo adotado, levou-se em consideração agricultura familiar e baixo investimento tecnológico ou seja, a adubação de base, e as doses de N foram menores que a recomendada para o cultivo convencional do milho (120 a 150 kg ha⁻¹ N).

A semeadura foi realizada direto no sulco, e as sementes foram inoculadas 30 minutos antes do plantio com a bactéria *Azospirillum brasilense* (AbV5 e AbV6), sendo 100ml do inoculante para cada 25 kg de sementes de milho, conforme preconizado pelo fabricante. A densidade populacional foi 50 mil plantas por hectare (PAIVA JUNIOR, 2001).

O controle de plantas daninhas foi realizado fazendo uso herbicida pós-emergente específico para cultura do milho, (Soberan, Nicon/Nicossulfouran e Peroleo) (100 ml, por bomba de 20 litros). Posteriormente, foram realizadas capinas. Não foi necessário o controle pragas e doenças. A adubação de cobertura foi realizada com sulfato de amônia (21% de N), nas doses (00, 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹ N), nas entrelinhas das parcelas, sendo metade aplicada no estágio V3 e V8 (três e oito folhas verdadeiras), (RITCHIE et al., 2003).

Com base na área útil de cada parcela (duas fileiras centrais, excluindo 0,50 m das extremidades), foram avaliadas as seguintes características: 1) altura de plantas (AP): realizada no estágio R3, em 20 plantas de cada parcela, medida do caule desde a base superior das raízes até a folha bandeira, 2) comprimento das espigas despalhadas (CED) e diâmetro de espigas despalhadas (DED): obtidos em 20 plantas da parcela usando um paquímetro de precisão (cm), 3) comprimento de raízes (CR) e largura de raízes (LR): obtidos no estágio R4 de maturação fisiológica em 20 plantas da parcela com o uso de paquímetro de precisão (cm), 4) peso das raízes (PR): oriundos de raízes coletadas aleatoriamente em 20 plantas por parcela no estágio R4 de maturação fisiológica com auxílio de pá de corte, tomando o devido cuidado para que todas as raízes fossem preservadas. Em seguida, as raízes foram separadas da parte aérea, lavadas em peneira malha fina e pesadas em balança de precisão (g), 5) produtividade de espigas verdes (PREV): foram coletadas espigas verdes à medida que os grãos se encontravam entre os estádios de grão leitoso (80% de umidade) e grão pastoso (MAGALHÃES, SOUZA, RODRIGUES, 2011). Em seguida, as espigas foram despalhadas e o peso de cada parcela convertido em kg ha⁻¹.

Para todas as características foi realizada análise de variância individual e, posteriormente, a análise conjunta. Em seguida, para o processo sem inoculação das sementes (S Az) e para o processo com inoculação das sementes (C Az), tanto em baixo N (30 kg ha^{-1} N) quanto em alto N (120 kg ha^{-1} N), foram estimados os coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as características com a produtividade de espiga verde (PREV). Foi utilizado o teste t, a 5% de significância, para testar as correlações. Posteriormente, as correlações foram desdobradas em efeitos diretos e indiretos das características sobre a produtividade de espiga verde, que foi considerada a variável básica (WRIGHT, 1921).

Foi realizado o diagnóstico de multicolinearidade por meio da análise do número de condição (NC), que representa a razão entre o maior e o menor autovalor da matriz de correlações (MONTGOMERY & PECK, 1981). No teste de multicolinearidade foi observado efeito fraco entre processos e doses de N, não sendo necessário a análise de trilha da regressão em crista (CARVALHO, 1995). Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa estatístico computacional Genes (CRUZ, 2013).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância conjunta para as características morfoagronômicas encontra-se na Tabela 2.

Para todas as características, foi observado efeito significativo para cultivares, cultivares x processos de inoculação e cultivares x ensaios. Por outro lado, com exceção da altura das plantas (AP), foram detectados efeitos significativos para a interação cultivares x doses de N e cultivares x doses de N x processos de inoculação.

O efeito significativo da interação cultivares x processos de inoculação e cultivares x processos x doses de N, indica que os cultivares tiveram comportamentos distintos em função dos processos de inoculação e/ou doses de N, reforçando a importância da realização de ensaios envolvendo processos de inoculação, cultivares e doses de nitrogênio.

Quadros et al. (2014), ao avaliarem o desempenho agrônomo a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*, verificaram efeito da interação entre híbridos e tratamentos sobre a produtividade, indicando que a inoculação pode ser mais eficiente em determinados híbridos. Segundo Hungria (2011) os efeitos da inoculação de sementes de milho sobre o rendimento de grãos dependem das características genéticas das plantas, das estirpes e das condições de ambiente.

Os coeficientes de variação (CV) variaram de 1,9% a 18,2%, com a maior parte situando-se abaixo de 10%, o que indica boa precisão na condução dos ensaios experimentais.

Segundo Pimentel - Gomes (2009), o CV é classificado como baixo quando menor do que 10%; médio, quando de 10 a 20%, e alto, de 20 a 30%.

Tabela 2. Análise de variância conjunta das características: altura de planta (AP), comprimento de raiz (CR), largura de raiz (LR), peso de raiz (PR), comprimento de espiga (CE), diâmetro de espiga (DE) e produtividade de espigas despalhadas (PREV), oriundas de dois processos de inoculação das sementes (S Az e C Az), associada a baixo e alto N, em oito cultivares de milho em Palmas – TO, safras 2019/20 e 2020/21.

FV	GL	QM						
		AP	CR	LR	PR	CE	DE	PREV
Bloco	2	171,6	6,39	2,3	2778,9	7,1	0,31	5912,3
Ensaio	1	19723,5	550,1*	371,2*	9961,9	0,005	3,52*	424502813,1*
Erro 1	2	1280,6	1,2	2,3	934,5	1,34	0,16	29514,1
Processo	1	609,2	2,3	61,9*	55046,9*	4,40*	0,001	2134898,5*
Proc x Ensaio	1	25,5	12,5	51,1*	292,5	29,3*	0,75	6902350,1*
Erro 2	4	508,9	1,9	0,9	635,4	0,15	0,40	81137,9
Doses N	1	11625,2*	1,5	2,3*	83708,7*	47,1*	0,33	68079942,2*
Doses x Proc	1	1837,7	18,1*	11,5*	25277,1*	0,05	0,52	20750,1
Doses x Ensaio	1	1989,1	0,01	1,5**	25599,1*	30,9*	5,33*	1480518,7*
Doses x Proc x Ensaio	1	77,5	10,5	14,6*	14093,9*	14,6*	0,02	83083,5
Erro 3	4	506,9	1,8	0,2	607,5	0,96	0,14	73306,7
Cultivar	7	2148,9*	26,1*	48,9*	14532,3*	7,55*	0,98*	4019784,7*
Cultivar x Doses	7	204,2	28,5*	16,2*	17412,6*	3,71*	0,84*	706766,3*
Cultivar x Proc	7	909,0*	27,6*	6,5*	46955,9*	2,86*	0,75*	1792162,8*
Cultivar x Ensaio	7	746,4*	13,9*	9,6*	6229,4*	1,48*	0,63*	2421596,1*
Cult. x Doses x Proc	7	155,9	9,2*	7,4*	18315,3*	2,04*	0,65*	836404,7*
Cult. x Doses x Ensaio	7	82,7	19,1*	3,1	16599,8*	1,69*	0,63*	713099,1*
Cult. x Ensaio x Proc	7	634,8*	3,7	3,7*	19510,1*	2,24*	0,39*	1583553,4*
Erro 4	123	164,8	2,8	1,6	1463,1	0,48	0,17	120212,9
CV 1 (%)	---	18,2	5,5	11,9	8,9	7,1	7,5	1,9
CV 2 (%)	---	11,5	7,2	7,7	7,3	2,4	11,8	3,1
CV 3 (%)	---	11,4	6,9	3,1	7,2	6,1	7,1	2,9
CV 4 (%)	---	6,55	8,7	9,9	11,1	4,2	7,8	3,8
Média	---	195,9	19,5	12,7	343,2	16,2	5,38	9.061,9

*significativo, a 5% de significância pelo teste F.

Fonte: SISVAR (FERREIRA, 2011).

As estimativas dos efeitos diretos e indiretos das características morfoagronômicas sobre a produtividade de espigas verdes (PREV) no processo sem inoculação das sementes (S Az) e no processo com inoculação das sementes (C Az), em baixo N (30 kg ha⁻¹ N) e alto N (120 kg ha⁻¹ N), são apresentadas na Tabela 3.

Na análise de trilha quando os valores da correlação de Pearson (r) e do efeito direto forem semelhantes em magnitude e sinal, a correlação explica bem a associação entre as variáveis, e se o r foi positivo e o efeito direto for baixo e/ou negativo, a correlação que existe é devido aos efeitos indiretos, indicando que a seleção truncada na variável auxiliar pode proporcionar ganhos satisfatórios na variável principal. Neste caso, a melhor estratégia é a seleção simultânea de características, com ênfase também naquelas cujos efeitos indiretos sejam significativos, e quando o valor de r for baixo e/ou negativo e o efeito direto foi positivo e alto, a falta de correlação é causada pelos efeitos indiretos, e se o r foi negativo e o efeito direto foi positivo e alto, ignoraram-se os efeitos indiretos e consideraram-se apenas os diretos (LÚCIO et al., 2013).

Tabelas 3. Estimativas dos efeitos diretos e indiretos das seis características sobre a produtividade de espigas verdes (PREV), nos processos sem inoculação das sementes (S Az) e com inoculação das sementes (C Az) associada a baixo e alto N, em oito cultivares de milho em Palmas – TO, safras 2019/20 e 2020/21.

Variáveis	Efeitos	Coeficiente de trilha			
		30 kg ha ⁻¹		20 kg ha ⁻¹	
		S Az	C Az	S Az	C Az
AP	Efeito direto sobre PREV	0,465	0,048	0,191	0,186
	Efeito indireto via CR	0,134	0,095	0,014	0,047
	Efeito indireto via LR	0,124	0,026	0,017	-0,015
	Efeito indireto via PR	-0,003	0,232	-0,001	0,009
	Efeito indireto via CED	0,084	-0,009	-0,007	0,024
	Efeito indireto via DED	0,056	0,020	0,139	0,043
	Efeito total Pearson (r)	0,81	0,41*	0,35*	0,30*
CR	Efeito direto sobre PREV	-0,224	-0,598	-0,338	-0,448
	Efeito indireto via AP	-0,278	-0,008	-0,008	-0,019
	Efeito indireto via LR	-0,130	-0,027	-0,259	-0,069
	Efeito indireto via PR	0,004	0,201	0,033	0,026
	Efeito indireto via CED	-0,049	0,016	0,010	-0,025
	Efeito indireto via DED	-0,002	0,019	0,017	-0,056
	Efeito total Pearson (r)	-0,68	-0,40*	-0,54*	-0,59*
LR	Efeito direto sobre PREV	-0,214	-0,137	-0,392	-0,120
	Efeito indireto via AP	-0,268	-0,009	-0,008	0,023
	Efeito indireto via CR	-0,136	-0,119	-0,223	-0,258
	Efeito indireto via PR	0,009	-0,061	-0,019	0,031
	Efeito indireto via CED	-0,045	0,028	0,023	-0,020
	Efeito indireto via DED	0,002	-0,008	0,089	-0,054
	Efeito total Pearson (r)	-0,65	-0,31*	-0,53*	-0,40*
PR	Efeito direto sobre PREV	-0,020	0,600	0,195	0,065
	Efeito indireto via AP	0,079	0,019	-0,001	0,026
	Efeito indireto via CR	-0,041	-0,202	-0,057	-0,174
	Efeito indireto via LR	0,100	0,014	0,039	-0,056
	Efeito indireto via CED	-0,016	-0,001	-0,004	0,090
	Efeito indireto via DED	-0,025	0,008	-0,072	-0,010
	Efeito total Pearson (r)	0,16	0,43	0,10	-0,14
CED	Efeito direto sobre PREV	0,225	-0,070	-0,047	-0,108
	Efeito indireto via AP	0,176	0,006	0,028	-0,042
	Efeito indireto via CR	0,049	0,133	0,075	-0,106
	Efeito indireto via LR	0,042	0,054	0,190	-0,022
	Efeito indireto via PR	0,001	0,008	0,015	-0,006
	Efeito indireto via DED	0,023	-0,009	-0,015	-0,075

	Efeito total Pearson (r)	0,52	0,11	0,25	-0,36*
DED	Efeito direto sobre PREV	0,056	-0,106	-0,408	-0,192
	Efeito indireto via AP	0,046	-0,009	-0,065	-0,041
	Efeito indireto via CR	0,008	0,108	0,014	-0,130
	Efeito indireto via LR	-0,008	-0,010	0,086	-0,034
	Efeito indireto via PR	0,009	-0,045	0,035	0,004
	Efeito indireto via CED	0,093	-0,013	-0,002	-0,042
	Efeito total Pearson (r)	0,20	-0,08	-0,34	-0,44*
R2		0,80	0,56	0,61	0,50
VR		0,44	0,66	0,62	0,70

*significativo, a 5%, pelo teste t, n = 48 observações.

Características: altura de planta (AP), comprimento de raiz (CR), largura de raiz (LR), peso de raiz (PR), comprimento de espiga despalhada (CED), diâmetro de espiga despalhada (DED), e produtividade de espiga verde (PREV).

Sob baixo N (30 kg ha⁻¹), na ausência do *Azospirillum* (S Az), foram observadas correlações positivas e significativas entre altura das plantas (AP) (0,81) e o comprimento de espigas despalhadas (CED) (0,52), com a produção de espigas verdes (PREV), e correlações negativas e significativas entre o comprimento da raiz (CR) (-0,68) e a largura das raízes (LR) (-0,65) com PREV. Destas correlações, AP apresentou o maior efeito direto sobre a produtividade (0,465), e também, os maiores efeitos indiretos via CR, LR e CED, indicando que a correlação explica bem a associação entre a AP com PREV e que a altura das plantas pode ser usada na seleção indireta visando incremento na produtividade de espigas.

Na presença do *Azospirillum* (C Az), sob baixo N (30 kg ha⁻¹), foram observadas correlações positivas e significativas entre altura das plantas (AP) (0,41) e o peso das raízes (PR) (0,43) com o PREV, e correlações negativas e significativas entre o comprimento da raiz (CR) (-0,40) e a largura das raízes (LR) (-0,31) com PREV. Destas correlações, o PR (0,60) e o CR (-0,598) apresentaram efeito direto alto sobre a produtividade, indicando que na seleção indireta, o peso das raízes e o comprimento das raízes seria, respectivamente, a situação mais favorável e desfavorável visando obter cultivares mais produtivos.

As diferenças observadas dos efeitos diretos e indiretos das correlações sobre a produtividade de espigas verdes (PREV), em baixo N (30 kg ha⁻¹), na ausência (S Az) e presença de *Azospirillum* (C Az), indica que a bactéria pode ter resultado em uma distribuição preferencial dos assimilados da parte aérea para a raiz, em virtude da produção do ácido indol-3-acético pela mesma (AIA) (NORMANLY, 1997; HUNGRIA, 2011; ANDRADE et al., 2016; MOLINA et al., 2018), que estimulou o desenvolvimento de raízes laterais, densidade e ramificação de pêlos radiculares (BASHAN & HOLGUIN, 1997; BURDMANN et al., 2000), bem como resultou em alterações na morfologia e no crescimento das raízes, possibilitando a planta explorar um maior volume de solo (BASHAN, 2005; PIOVESAN, 2017; BASHAN & HOLGUIN, 1997; ZAIED, 2003; MOLINA et al., 2018). Assim, na

presença da bactéria, houve um maior efeito direto do peso das raízes (PR) sobre a produtividade de espigas verdes.

A auxina é o principal hormônio produzido por estirpes de *Azospirillum*, que tem como funções regular o crescimento da planta através da fixação de nitrogênio, da produção de fitormônios, do estímulo à ramificação da raiz e do aumento da biomassa da parte aérea e da raiz (NORMANLY, 1997; BASHAN, 2005; PIOVESAN, 2017).

Os resultados estão de acordo com Naoe et al. (2020) que estudaram o efeito da coinoculação com *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum*, em plantas de soja submetidas a déficit hídrico e verificaram que nos tratamentos coinoculados com *Azospirillum brasilense* houve maior efeito indireto da matéria seca da raiz na produtividade de grãos.

Portugal et al. (2017) observou interação entre *Azospirillum* e doses de N para diâmetro de espiga e verificou que em doses menores (40 kg ha^{-1}), não houve prejuízos ao processo de fixação biológica. Por outro lado, Bulla e Balbinot Jr. (2012), ao estudarem a inoculação com *A. brasilense*, em cinco doses de N em cobertura, não verificaram interação significativa entre inoculação com *A. brasilense* e as doses de N, indicando que possíveis efeitos benéficos dessa inoculação no rendimento de grãos de milho podem ser resultantes de hormônios produzidos pelas bactérias.

Em alto N (120 kg ha^{-1}), na ausência de *Azospirillum* (S Az), foi observada correlação positiva e significativa entre altura das plantas (AP) (0,35) com a produção de espigas verdes (PREV) e correlações negativas e significativas entre o comprimento das raízes (CR) (-0,54), largura das raízes (LR) (-0,53) e o diâmetro de espigas (DED) (-0,34) com PREV. Todas as correlações significativas, com exceção de DED, foram de menor magnitude quando comparadas com aquelas oriundas do baixo N (30 kg ha^{-1}) na ausência do *Azospirillum* (S Az). Assim, a AP, por apresentar correlação alta e efeito direto positivo em PREV, pode ser utilizada, visando seleção indireta para aumento na produtividade de espigas. Ressalta-se, contudo, que o peso das raízes (PR), apesar de ter apresentado correlação de baixa magnitude com PREV, teve efeito direto (0,195) de magnitude comparável à AP, não podendo ser negligenciada em programas de melhoramento.

Na presença de *Azospirillum* (C Az), sob alto N (120 kg ha^{-1}), com exceção do peso das raízes (PR), as demais correlações foram significativas com PREV. Assim, enquanto a altura das plantas (AP) (0,30) apresentou correlação positiva e significativa com PREV, as demais correlações foram negativas entre o comprimento das raízes (CR) (-0,59), largura das raízes (LR) (-0,40), comprimento de espigas despalhadas (CED) (-0,36) e o diâmetro de espigas despalhadas (DED) (-0,44) com PREV. Entre estas correlações, CR, LR e DED foram de maior magnitude, e AP de média magnitude com PREV, quando comparadas com aquelas

oriundas de baixo N (30 kg ha^{-1}) na presença de *Azospirillum* (C Az). De modo similar ao ocorrido sob baixo N (S Az) e alto N (S Az), a seleção de plantas mais altas seria a situação mais favorável visando aumento na produtividade de espigas verdes.

Foram observadas menores discrepâncias entre os valores das correlações e os efeitos diretos de cada uma das características entre os processos S Az e C Az, sob alto N (120 kg ha^{-1}), em relação àqueles oriundos da comparação entre os processos S Az e C Az, sob baixo N (30 kg ha^{-1}), que pode ter sido oriunda do efeito inibitório do alto N sobre a colonização das raízes das plantas pela bactéria, uma vez que nesta condição, o N altera o estado fisiológico das plantas e, conseqüentemente, a interação com a *Azospirillum* (PIOVESAN, 2017).

Morais (2012) revelou que a colonização de bactérias diazotróficas em plantas de milho pode ser afetada por vários fatores, tanto bióticos como abióticos e somente a inoculação não assegura a eficácia dessas bactérias em promover aumento no crescimento e no rendimento das plantas.

Segundo Hungria (2011), em sementes de milho, os efeitos da inoculação levam a resultados mais promissores em cultivos onde ocorre baixo e médio investimento na lavoura, ou seja, onde ocorra baixo nível tecnológico.

Coelho et al. (2019), compararam efeito do nitrogênio na presença e ausência de *Azospirillum* (S/A) em genótipos de milho, visando produtividade de grãos, e verificaram que na presença da bactéria correu uma maior produtividade, para todos os genótipos de milho, pelo fato de as plantas absorverem preferencialmente o nitrogênio mineral, que está na forma prontamente disponível para a planta, em detrimento da absorção de N via fixação simbiótica, que envolve gasto energético para a formação dos nódulos, resultando em queda de produtividade.

Por outro lado, Pandolfo et al. (2015) avaliaram algumas características agronômicas e o rendimento de grãos de milho cultivado em Latossolo Vermelho com diferentes doses de N em cobertura, na presença e ausência de inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* e concluíram que a inoculação de sementes de milho com *A. brasilense* não aumentou o rendimento de grãos e não alterou a massa de mil grãos, estatura de plantas, altura da inserção da espiga principal e diâmetro do colmo. De modo similar, Souza (2019) relata não obter incrementos nas plantas quando inoculadas com a bactéria e doses nitrogênio.

Segundo Hungria (2011) os efeitos da inoculação de sementes de milho sobre o rendimento de grãos dependem das características genéticas das plantas, das estirpes e das

condições de ambiente. Com relação ao ambiente, segundo o mesmo autor, os resultados mais promissores aparecem em situações de baixo e médio investimento na lavoura.

De acordo com Quadros et al. (2014), o sucesso da inoculação pode variar devido alguns fatores, tais como o local, tipo de solo, clima da região e genótipo das plantas. Esses mesmo autores ao avaliarem o desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum* verificaram efeito da interação entre híbridos e tratamentos sobre a produtividade, indicando que a inoculação pode ser mais eficiente em determinados híbridos. Os autores também afirmam que o benefício da inoculação, dependendo do genótipo do milho, pode ser observado em diferentes partes da planta, como grãos, parte aérea ou colmo.

Dado as diferenças observadas entre os valores das correlações e os efeitos diretos de cada uma das características, na presença e na ausência do *A. brasilense*, em alto e baixo N, poderá ser estudados em futuros trabalhos envolvendo *A. brasilense*, voltados para alta tecnologia e baixa tecnologia (agricultura familiar), poderiam aumentar a frequência de alelos favoráveis na população, que resultaria em uma maior eficiência do processo de fixação simbiótica de nitrogênio em gramíneas, com conseqüente redução do uso do nitrogênio mineral, uma vez que poderia ocorrer uma maior produção de fitormônios e um maior desenvolvimento do sistema radicular, refletindo em ganhos de produtividade.

4 CONCLUSÕES

Houve efeito da adubação nitrogenada e da bactéria *Azospirillum brasilense* nos efeitos diretos e indiretos das características sobre a produtividade de espigas verdes;

A seleção de plantas mais altas, em alto N, na presença e ausência do *Azospirillum*, e em baixo N, na ausência do *Azospirillum*, favorece ao aumento na PREV;

Em baixo N, na ausência do *Azospirillum*, o peso de raízes poderia ser utilizado visando incrementos na PREV;

A condução de novos estudos se faz necessário envolvendo a associação de doses em alto e baixo N, na presença de *Azospirillum brasilense*, visando aumento na PREV, propiciando, menor custo final na implantação da lavoura, e a conservação ambiental.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, A.T.E.; MARTINS, A.L.M.; GONÇALVES, E.C.P.; JUNIOR, E.J.S.; BRANCO, R.B.F. Correlações e análise de trilha em clones de seringueira. *Revista Ceres*, v.57, n.5, p.602-607, 2010.

ANDRADE, A. T.; CONDÉ, A. B. T.; COSTA, R. L.; POMELA, A. W. B.; SOARES, A. L.; MARTINS, F. A. D.; LIMA, W. T.; OLIVEIRA, C. B. Produtividade de milho em função da redução do nitrogênio e da utilização de *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 15, n. 2, p. 229-239, 2016.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E. Plant Growth-Promoting In: HILLEL, D., In *Encyclopedia of Soils in the Environment*. 1. ed. Oxford: Elsevier, p.103-115, 2005.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* - plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology*, v. 43, n. 2, p. 103-121, 1997.

BRASILEIRO, B.P.; PETERNELLI, L.A.; BARBOSA, M.H.P. Consistency of the results of path analysis among sugarcane experiments. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.13, n.2, p.113-119, 2013.

BULLA, D.; BALBINOT JR., A.A. Inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasiliense* em diferentes doses de nitrogênio. *Agropecuária Catarinense*, v. 25, n. 2, p. 61-63, 2012.

BURDMAN, Saul; OKON, Yaacov; JURKEVITCH, Edouard. Surface characteristics of *Azospirillum brasilense* in relation to cell aggregation and attachment to plant roots. *Critical reviews in microbiology*, v. 26, n. 2, p. 91-110, 2000.

CARGNELUTTI FILHO, A.; RIBEIRO, N.D.; BURIN, C.; TOEBE, M.; CASAROTTO, G. Número necessário de experimentos para a análise de trilha em feijão. *Ciência Rural*, v.41, n.4, p.564-572, 2011.

CARVALHO, SP de. Métodos alternativos de estimação de coeficientes de trilha e índices de seleção sob multicolinearidade. 163p. 1995. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado)– Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 1995.

COELHO, Antônio M. Nutrição e adubação. Embrapa Milho e Sorgo-Capítulo em livro científico (ALICE), 2007.

COELHO, B. A. et al. Produtividade do milho cultivado em baixa latitude na entressafra inoculado com *Azospirillum brasilense* com diferentes doses de nitrogênio. *Journal of Bioenergy and Food Science*, v. 6, p. 18-28, 2019.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S.; REGAZZI, A.J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 3 ed. Viçosa: UFV, 668p., 2014.

CRUZ, COSME DAMIÃO. GENES: software para análise de dados em estatística experimental e em genética quantitativa. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DE CARVALHO MATOS, Diogo Jânio; DE SOUZA, RODRIGO FERNANDES; BORGES, ANA PAULA CIPRIANO. Desenvolvimento e produção de milho verde sob doses de ureia em cobertura. In: Congresso Interdisciplinar-ISSN: 2595-7732. 2017.

- DIAS, V. C., PELÚZIO, J. M., LIMA, M. D. DE, & REINA, E. (2018). *Azospirillum brasilense* e nitrogênio, em cultivo de entressafra, sob baixa latitude. *Journal of Bioenergy and Food Science*, 5(4), 106- 118. doi: 10.18067/jbfs.v5i4.212.
- DONAZZOLO, J.; SALLA, V.P.; SASSO, S.A.Z.; DANNER, M.A.; CITADIN, I.; NODARI, R.O. Path analysis for selection of feijoa with greater pulp weight. *Ciência Rural*, v.47, n.6, p.1-7, 2017.
- DOS SANTOS, H. G .; JACOMINE, P. K. T.; DOS ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. M.; FILHO, J. C. A.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. Sistema brasileiro de classificação de solos. 5. Ed., ver. Edição ampliada - Embrapa, 366p, 2018.
- DUETE, R. R. C.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C.; TRIVELIN, P. C. O.; AMBROSANO, E. J. Manejo da adubação nitrogenada e utilização do nitrogênio (15N) pelo milho em Latossolo Vermelho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.32, p.161-171, 2008.
- DUTRA, S.M.F.; OLIVEIRA, G.H.F.; MORAES, K.E.; AMARAL, C.B.; REVOLTI, L.T.M.; CAPRIO, C.H.; MÔRO, G.V. Análise de trilha de variáveis agronômicas e produtividade em genótipos de milho. *Ciência & Tecnologia*, v.8, n.1, 2016.
- ENTRINGER, Geovana Cremonini et al. Correlação e análise de trilha para componentes de produção de milho superdoce. *Revista Ceres*, v. 61, n. 3, p. 356-361, 2014.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- HUNGRIA M., Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011.
- INMET: <http://sisdagro.inmet.gov.br/sisdagro/app/monitoramento/bhc> consultas em 2019 a 2021.
- LÚCIO, Alessandro Dal'Col et al. Relações entre os caracteres de maracujazeiro-azedo. *Ciência Rural*, v. 43, n. 2, p. 225-232, 2013.
- LUZ, L.N.; MELO FILHO, P.A.; SANTOS, R.C. Correlations and path analysis of peanut traits associated with the peg. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.11, n.1, p.88-93, 2011.
- MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, T. C., de; RODRIGUES, J. A. Cultivo do Milho, Embrapa Milho e Sorgo, Sistema de Produção nº. 1, 2011. Consulta online (julho 2021). <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27330/1/Ecofisiologia.pdf>
- MOLINA, Romina et al. Regulation of IAA biosynthesis in *Azospirillum brasilense* under environmental stress conditions. *Current microbiology*, v. 75, n. 10, p. 1408-1418, 2018.
- MONTGOMERY DC & Peck EA (1981) Introduction to linear regression analysis. New York, John Wiley. 504p.
- MORAIS, Tâmara Prado de et al. Adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense* em híbridos de milho. 2012.

MOREIRA, R. C.; DE ASSIS V. F. C.; JÚNIOR, D. D. VALADÃO. Desempenho agrônômico do milho em função da inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada. Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, v. 62, 2019.

NAOE, A. M. de L. et al. Coinoculação com *Azospirillum brasilense* em cultivares de soja submetidas a déficit hídrico. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 24, n. 2, p. 89-94, 2020.

PAIVA JUNIOR, M. C.; PINHO, R. G. von; PINHO, E. V. R. von; RESENDE, S. G.. Desempenho de cultivares para a produção de milho verde em diferentes épocas e densidades de semeadura em Lavras-MG. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 25, n. 5, p.1235-1247. 2001.

PANDOLFO, C.M.; VOGT, G. A.; BALBINOT JUNIOR³, A.A.; GALLOTTI, G. J.M.; ZOLDAN, S. R. Desempenho de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a doses de nitrogênio em cobertura. 2015.

PEREIRA FILHO, Israel Alexandre. O cultivo do milho-verde. Embrapa Milho e Sorgo-Livro técnico (INFOTECA-E), 2002.

PIOVESAN, Felipe. Produção de biomassa de aveia preta inoculada por *Azospirillum brasiliense*. 2017.

PORTUGAL, José Roberto et al. Coberturas vegetais, doses de nitrogênio e inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho no Cerrado. Revista Ciência Agronômica, v. 48, n. 4, p. 639-649, 2017.

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

REIS JÚNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. 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.

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. Piracicaba: Potafos, 2003.

SANTOS, Gil Rodrigues dos et al. Severidade de doenças foliares e produtividade de genótipos de milho em resposta à adubação nitrogenada. Revista Ceres, v. 60, p. 505-513, 2013.

SOUZA, S. Inoculante reduz uso de nitrogênio em milho e aumenta produtividade em mais de 100% Embrapa. Produção vegetal Fixação Biológica de Nitrogênio, 2019.

TEODORO, P.E.; COSTA, R. D.; ROCHA, R.B.; LAVIOLA, B.G. Contribuição de caracteres agrônômicos para a produtividade de grãos em pinhão-mansão. Bragantia, v. 75, n. 1, p.51-56, 2016.

WRIGHT S. (1921) Correlation and causation. Journal of Agricultural Research, Washington, 20:557-585, 1921.

ZAIED, K.A. Rendimento e assimilação de nitrogênio em trigo de inverno inoculado com novos inoculantes recombinantes de rizobactéria. *Journal of Biological Sciences*, 2003.

CAPÍTULO IV

Divergência genética entre cultivares de milho com e sem a bactéria *Azospirillum brasilense*, associada a baixo e alto N, visando milho verde

RESUMO

No estudo da diversidade de uma população, são utilizadas características agronômicas e morfológicas, que podem ser úteis visando identificar genótipos promissores em programa de melhoramento. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a divergência genética em cultivares milho, com e sem a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, sob alto e baixo N, para a produtividade de espigas verdes, no cerrado Tocantinense. Foram instalados dois ensaios, nos anos agrícolas 2019/20 e 2020/21 em semeaduras realizadas em 04/12/2019 e 10/12/2020 respectivamente, na Universidade Federal do Tocantins, Palmas-TO. Em cada ensaio, o delineamento experimental foi de blocos casualizados, com três repetições, sendo os tratamentos dispostos em parcelas subdivididas, onde foram alocados nas parcelas os tratamentos envolvendo os processos com inoculação das sementes (C Az) e sem inoculação de sementes (S Az) com *Azospirillum brasilense*, nas subparcelas foram alocadas duas doses de nitrogênio (30 e 120 kg ha⁻¹ N), consideradas como baixo e alto N, respectivamente, e nas subsub parcelas oito cultivares de milho. Foram utilizadas seis características: altura de plantas (AP), comprimento de raízes (CR), largura de raízes (LR), peso de raízes (PR), comprimento de espigas despalhadas (CED), diâmetro de espigas despalhadas (DED), e produtividade de espigas verdes (PREV). Para cada processo (S Az) e (C Az), tanto em baixo N (30 kg ha⁻¹ N) quanto em alto N (120 kg ha⁻¹ N), foi utilizada a distância generalizada de Mahalanobis (D2) como medida de dissimilaridade e, o agrupamento, foi realizado pelo método de otimização de Tocher. Foi também utilizado o critério de Singh para quantificar a contribuição relativa das características variáveis estudadas. O *Azospirillum brasilense* e as doses de N influenciaram na expressão da variabilidade genética. O BM 3061, em alto N, e AG 1051, em baixo N, foram os mais divergentes em ambos os processos de inoculação, sendo promissores como

progenitores em futuros trabalhos envolvendo ambos os processos. A característica PREV poderá ser útil para novos estudos, visando à seleção de genótipos contrastantes.

Palavras-chave: *Zea Mays*; Fixação biológica de N; Características morfoagronômicas; Diversidade genética; Agricultura familiar.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo do milho-verde (*Zea Mays* L.) é utilizado para o consumo (*in natura*) nas formas cozida, assada ou processada e, devido à sua aceitação e valor agregado, costuma atingir melhores preços de mercado do que o milho em grão, tornando-se uma alternativa viável para pequenos e médios produtores (ENTRINGER et al., 2014; GALVÃO, 2015; BICALHO & VILLAR, 2019). Todavia, o cultivo do milho-verde tem encontrado barreiras, que vão desde a falta de incentivos, como a escassez de recursos financeiros, até o baixo nível tecnológico, a exemplo do nitrogênio (N), que é uma das maiores exigências nutricionais da planta e, cuja deficiência pode reduzir de 10 a 25% o rendimento de grãos (SUBEDI et al., 2009).

O nitrogênio é o macronutriente mineral que exerce maior influência na produtividade de grãos e também o que mais onera o custo de produção (SILVA et al., 2005). Esse nutriente faz parte de várias moléculas de desenvolvimento da planta (proteínas, enzimas, aminoácidos), estabelecimento e duração da área foliar, formação das espigas, e fonte produtora de fotoassimilados (RAMBO et al., 2007). Porém, em solos tropicais do cerrado, há perdas acentuadas por lixiviação e volatilização (MÜLLER, 2016), cuja ausência nos 60 primeiros dias, pode prejudicar a transferência dos incrementos para espigas e grãos e a produtividade (FALLAS et al., 2011; ROCKENBACH, 2017).

Diante do contexto, uma alternativa para o fornecimento do nitrogênio, com um baixo custo e sem perdas na lixiviação, seria através do uso de bactérias diazotróficas fixadoras de nitrogênio (FBN) que, poderia reduzir o uso do nitrogênio mineral, bem como estimular o crescimento das raízes, através de componentes como ácido indol-acético (AIA), giberilinas e citocininas, promover uma maior altura de plantas e um maior teor de clorofila sendo, assim, uma opção barata e viável para o pequeno produtor (HUNGRIA, 2011). Segundo Bashan et al. (2004), o *Azospirillum*, o maior desenvolvimento das raízes de milho, resulta em maior absorção da água e minerais e, por fim, em uma maior tolerância da planta a estresses como salinidade e seca, tornando-a vigorosa e produtiva.

Moreira e Araújo et al. (2011) também verificaram efeito benéfico da inoculação de *A. brasilense* em relação ao tratamento sem inoculação, com relação ao número e massa das espigas comerciais, onde a combinação de inoculação com *A. brasilense* e nitrogênio aumentou em mais de 30% a produção de espigas verdes.

O conhecimento da divergência genética fornece parâmetros para escolha de genótipos que, ao serem cruzados, aumentam as chances de obtenção de cultivares superiores em gerações segregantes (PAIXÃO et al., 2008; ROTILI et al., 2012). No estudo da diversidade genética de uma população, são utilizadas características morfoagronômicas, fazendo uso das diversas medidas de dissimilaridade por meio do método da distância generalizada de Mahalanobis (D2), (SIMON et al., 2012), o método de agrupamento de Tocher e o critério de Singh (1981) para quantificar a contribuição relativa dessas características para a divergência genética.

Contudo, são escassas informações na literatura sobre o efeito do *Azospirillum brasilense* na divergência genética, associada ao N, para o cultivo do milho-verde, no bioma cerrado. O trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a divergência genética em cultivares milho, com e sem a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, sob alto e baixo N, para a produtividade de espigas verdes, no cerrado Tocantinense.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na área experimental da Universidade Federal do Tocantins – UFT, campus de Palmas – TO (altitude de 230 m, latitude 10°12'54"S e longitude 48°20'02"W). Foram instalados dois ensaios, sendo a primeira época no ano agrícola 2019/20, em semeadura realizada em 04/12/2019, e a segunda época no ano agrícola 2020/21, em semeadura realizada em 10/12/2020.

O solo da área experimental, onde foram realizados os ensaios, de acordo com Sistema Brasileiro de Classificação de Solos é considerado como Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (DOS SANTOS, 2018). As amostras de solo coletadas a uma profundidade de 0 a 20 cm, apresentaram, em média, as seguintes características: pH(CaCl²) 6,0; Argila 15,5%; Silte 5,9%; Areia 78,6%; M.O 11,63 g dm⁻³; P (Mehlich⁻¹) 9,92 mg dm⁻³; K 0,2 cmol dm⁻³; Ca 1,90 cmol dm⁻³; Mg 1,12 cmol dm⁻³; S.B 3,22 cmol dm⁻³; CTC 5,02 cmol dm⁻³, e V 64,14%. Ressalta-se que os dois ensaios foram realizados em áreas adjacentes, no mesmo local.

Na Tabela 1, estão representados as médias de temperaturas e precipitações pluviométrica, registradas nos anos agrícolas 2019/2020 e 2020/2021 na estação experimental da UFT (INMET, 2020/2021).

Tabela 1 - Médias de temperaturas (°C) e dados pluviométricos (mm), no período de condução dos ensaios, nas safras 2019/2020 e 2020/2021, em Palmas – TO.

Dados Climáticos				
Período	Safrá 2019/2020		2020/2021	
	Temp. média (°C)	Precipitação (mm)	Temp. média (°C)	Precipitação (mm)
Novembro	28,6 °C	197,8 mm	27,9 °C	51,8 mm
Dezembro	26,9 °C	298,0 mm	26,8 °C	258,0 mm
Janeiro	26,8 °C	307,9 mm	26,3 °C	348,8 mm
Fevereiro	26,9 °C	342,0 mm	24,2 °C	485,0 mm
Março	26,5 °C	420,0 mm	26,1 °C	511,0 mm
Média	27 °C	313,7 mm	26,4 °C	337,92 mm

Fonte: INMET (2019/2021).

O delineamento experimental utilizado, em cada ensaio, foi de blocos casualizados, com três repetições. Os tratamentos foram dispostos em parcelas subdivididas, onde foram alocados nas parcelas os tratamentos com inoculação de sementes com *Azospirillum* (C Az) e sem inoculação de sementes (S Az), nas subparcelas duas doses de nitrogênio (30 e 120 kg ha⁻¹ N, consideradas como baixo e alto N, respectivamente), e nas subparcelas oito cultivares de milho, sendo três híbridos simples (M-274, PR-27D28, AG 8088-PRO2), dois híbridos duplos (BRS-2022, AG-1051), dois híbridos triplos (BRS-3046, BM-3061) e uma variedade de polinização aberta (Anhembí), todos adquiridos nos comércio local. As parcelas experimentais foram constituídas por quatro fileiras, com 3,0 m de comprimento, espaçadas por 1,0 m totalizando uma área de 12,0 m². Na colheita, considerou-se área útil as duas fileiras centrais, descartando 0,50 m das extremidades.

O preparo do solo foi em cultivo convencional, sem necessidade de calagem. Na semeadura foi realizada adubação no fundo do sulco com 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, usando a formulação superfosfato simples, e 48 kg ha⁻¹ de K₂O utilizando o cloreto de potássio. O manejo adotado, levou se em consideração agricultura familiar e baixo investimento tecnológico ou seja, a adubação de base, e as doses de N foram menores que a recomendada para o cultivo convencional do milho (120 a 150 kg ha⁻¹ N).

A semeadura foi realizada direto no sulco, e as sementes foram inoculadas 30 minutos antes do plantio com a bactéria *Azospirillum brasilense* (AbV5 e AbV6), sendo 100ml do inoculante para cada 25 kg de sementes de milho, conforme preconizado pelo fabricante. A densidade populacional foi 50 mil plantas por hectare (PAIVA JUNIOR, 2001).

O controle de plantas daninhas foi realizado fazendo uso de herbicida pós-emergente específico para cultura do milho, (Soberan, Nicon/Nicossulfouran e Peroleo) (100 ml, por bomba de 20 litros). Não foi necessário o controle pragas e doenças. A adubação de

cobertura foi realizada com sulfato de amônia (21% de N), nas doses de 30 kg ha⁻¹ (baixo N) e 120 kg ha⁻¹ (alto N), definidas conforme Coelho (2007), nas entrelinhas das parcelas, sendo metade aplicada no estágio V4 e metade em V8 (quatro e oito folhas verdadeiras, respectivamente) (RITCHIE et al., 2003).

As características avaliadas foram: 1) altura de plantas (AP) realizada no estágio R3, em 20 plantas de cada parcela, medindo do caule na base superior das raízes até a folha bandeira, 2) comprimento das espigas despalhadas (CED) e diâmetro de espigas despalhadas (DED), foram obtidos em 20 plantas da parcela usando um paquímetro de precisão (cm), 3) comprimento de raízes (CR) e largura de raízes (LR) foram realizados em 20 plantas da parcela com o uso de paquímetro de precisão (cm), 4) peso das raízes (PR) foi realizado através das raízes coletadas aleatoriamente em 20 plantas por parcela no estágio R4 de maturação fisiológica com auxílio de pá de corte, de modo que todas as raízes fossem preservadas. Em seguida, as raízes foram separadas da parte aérea, lavadas em peneira malha fina e pesadas em balança de precisão (g), 5) produtividade de espigas verdes (PREV), com base na área útil da parcela (duas fileiras centrais), foram coletadas espigas verdes à medida que os grãos se encontravam entre os estádios de grão leitoso (80% de umidade) e grão pastoso (MAGALHÃES, SOUZA, RODRIGUES, 2011). Em seguida, as espigas foram despalhadas e o peso de cada parcela convertido em kg ha⁻¹.

De posse dos dados de produtividade e das características morfoagronômicas, foi realizada análise de variância individual em cada ensaio e, posteriormente, análise conjunta. Em seguida, foi realizado um estudo da divergência genética para o processo sem inoculação das sementes (S Az) e outro estudo para o processo com inoculação das sementes (C Az), em baixo N (30 kg ha⁻¹ N) e em alto N (120 kg ha⁻¹ N), sendo empregadas técnicas multivariadas, no qual utilizou-se, primeiramente, a distância generalizada de Mahalanobis (D2), como medida de dissimilaridade. Em seguida, foi aplicado o método hierárquico aglomerativo de otimização proposto por Tocher, e, por fim, foi determinada a contribuição relativa das características para diversidade pelo método de Singh (1981).

As análises foram realizadas utilizando-se o programa estatístico computacional GENES (CRUZ, 2013).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das distâncias (D2) entre os cultivares, no processo sem inoculação das sementes (S Az) e no processo com inoculação das sementes (C Az), em baixo N (30 kg ha⁻¹ N) e alto N (120 kg ha⁻¹ N), são apresentados na Tabela 2.

Sob baixo N (30 kg ha^{-1}), na ausência de *Azospirillum* (S Az), foram observadas menores distâncias entre os cultivares BRS 2022 e BM 3061 (5,14) e Anhembi e BM 3061 (7,65). Já as maiores distâncias foram entre os cultivares PR 27D28 e AG 1051 (121,8) e M 274 e PR 27D28 (105,37). Por outro lado, na presença de *Azospirillum* (C Az), as menores distâncias foram entre os cultivares M 274 e BRS 2022 (11,75), AG 8088-PRO2 e BRS 2022 (12,19), BM 3061 e BRS 2022 (13,68) e PR 27D28 e M 274 (14,40) e as maiores distâncias foram entre Anhembi e AG 1051 (87,28), BRS 3046 e AG 1051 (81,42) e AG 8088-PRO2 e AG 1051 (76,88). Ressalta-se que as maiores distâncias sem a bactéria (S Az) envolveu, principalmente, AG 1051. Por outro lado, as maiores distâncias com a bactéria (C Az) envolveram apenas os cultivares Anhembi, BRS 3046 e, novamente, AG 1051.

Em alto N (120 kg ha^{-1}), na ausência de *Azospirillum* (S Az), as menores distâncias ocorreram entre os cultivares M 274 e BRS 2022 (7,45), e PR 27D28 e M 274 (10,87), e as maiores entre BRS 2022 e AG 8088-PRO2 (82,88). Por outro lado, na presença de *Azospirillum* (C Az), as menores distâncias envolveram M 274 e PR 27D28 (13,14) e as maiores envolveram sempre os cultivares BRS 3046 e BRS 2022, sendo a combinação BRS 3046 com BRS 2022 a que resultou em uma maior distância (152,88). Assim como o ocorrido em baixo N na ausência de *Azospirillum*, novamente BRS 3046 se destacou entre os cultivares com maior medida de dissimilaridade.

Quando comparadas as maiores e menores distâncias, entre os processos de inoculação (S Az e C Az), tanto em baixo N (30 kg ha^{-1}) quanto em alto N (120 kg ha^{-1}), bem como as doses de nitrogênio, no processo sem a bactéria (S Az) e com a bactéria (C Az), foram observadas mudanças nas distâncias entre os cultivares decorrentes, no primeiro caso, dos processos de inoculação e, no segundo caso, das diferentes doses de N.

A inoculação com a *Azospirillum* pode ocasionar mudanças fisiológicas, refletindo em benefícios como maior e melhor absorção de água e nutrientes, auxiliando no crescimento vegetativo das plantas (MOREIRA & ARAÚJO, 2011), onde a sinergia entre a bactéria e os genótipos pode proporcionar um melhor desenvolvimento das plantas (HUNGRIA et al., 2010; BRACCINI et al., 2012; ZEFFA et al., 2019).

As amplitudes dos valores das estimativas de dissimilaridade de Mahalanobis observadas sugerem haver variabilidade genética, viabilizando desta forma, a escolha de genitores contrastantes para extração de características desejáveis que poderão ser utilizadas em futuros programas de melhoramento (SIMON et al., 2012).

A variabilidade genética é essencial nos programas de melhoramento de plantas, pois permite a heterose, possibilitando a obtenção de diferentes fenótipos e auxiliando na

busca de genes com tolerância a déficit hídrico, por apresentarem alta capacidade de adaptação a ambientes específicos (PATERNIANI et al., 2008).

Tabela 2. Estimativas de dissimilaridade Mahalanobis (D2) de oito cultivares de milho, em seis características morfoagronômicas, e dois processos de inoculação das sementes com e sem *Azospirillum* (S Az e C Az), em baixo (30 kg ha⁻¹) e alto N (120 kg ha⁻¹) N, em Palmas-TO, nos anos agrícolas 2019/20 e 2020/21.

Cultivares	30 kg ha ⁻¹				120 kg ha ⁻¹			
	S Az		C Az		S Az		C Az	
	Min.	Máx.	Min.	Máx.	Min.	Máx.	Min.	Máx.
1-BRS 3046	18,17 (6)	73,96 (7)	46,47 (5)	81,42 (7)	16,71 (8)	62,50 (4)	46,25 (8)	152,88 (5)
2-Anhembi	7,65 (6)	51,28 (7)	18,79 (3)	87,28 (7)	14,71 (3)	63,08 (8)	22,23 (8)	103,77 (5)
3-M 274	21,88 (5)	105,37 (4)	11,75 (5)	69,18 (1)	7,45 (5)	61,44 (8)	13,14 (4)	58,80 (1)
4-PR 27D28	26,24 (2)	121,80 (7)	14,40 (3)	64,80 (1)	10,87 (3)	62,50 (1)	13,14 (3)	123,44 (1)
5-BRS 2022	5,14 (6)	54,24 (7)	11,75 (3)	46,47 (1)	7,45 (3)	82,28 (8)	25,23 (7)	152,88 (1)
6-BM 3061	5,14 (5)	46,07 (7)	13,68 (5)	59,80 (2)	26,92 (8)	64,81 (7)	43,53 (3)	107,48 (5)
7-AG 1051	46,03 (3)	121,80 (4)	29,87 (6)	87,28 (2)	20,55 (1)	64,81 (6)	22,92 (4)	108,41 (1)
8-AG 8088	13,78 (6)	67,60 (7)	12,19 (5)	76,88 (7)	16,71 (1)	82,28 (5)	22,23 (2)	136,48 (5)
*Mínima	5,14 (5 e 6)	---	11,75 (3 e 5)	---	7,45 (3 e 5)	---	13,14 (3 e 4)	---
*Máxima	---	121,80 (4 e 7)	---	87,28 (2 e 7)	---	82,28 (5 e 8)	---	152,88 (1 e 5)

*Menor e maior distância geral entre os cultivares, e entre parênteses estão representados os cultivares.

*1= BRS-3046; 2= Anhembi; 3= M-274; 4= PR-27D28; 5= BRS-2022; 6= BM-3061; 7= AG-1051; 8= AG 8088-PRO2.

Quando comparados os processos de inoculação (S Az e C Az), em baixo N e em alto N, pelo método de Tocher, foram observadas mudanças na composição dos grupos (Tabela 3).

Sob baixo N, foi possível observar a distribuição dos cultivares em três grupos distintos, tanto para o processo S Az, quanto para o processo C Az onde, em ambos os processos, os cultivares Anhembi, M 274, BRS 2022, BM 3061 e AG 8088-PRO2 sempre pertenceram ao mesmo grupo e AG 1051 sempre esteve em um grupo de forma isolada. Para os demais cultivares, ou seja, BRS 3046 e, também, PR 27D28, os processos resultaram em agrupamentos distintos.

Em alto N, foram formados quatro grupos de médias para os processos S Az e C Az onde, os cultivares M 274, PR 27D28 e BRS 2022 foram alocados no mesmo grupo e BM 3061 em um grupo isolado. Por outro lado, para os demais cultivares, ou seja, BRS 3046, Anhembi, AG 1051 e AG 8088-PRO2, os processos resultaram em agrupamentos distintos.

Hungria (2011) relata que os efeitos da inoculação de sementes de milho depende das características genéticas das plantas, das estirpes e das condições de ambiente. Além disso, há também a interação entre genótipo da planta e a estirpe inoculada, (SALA et al., 2005), indicando uma resposta diferencial dos genótipos de acordo com a forma de inoculação utilizada (BASHAN & DE-BASHAN, 2010)

Quadros et al. (2014), relatam a presença de interação entre híbridos de milho e tratamentos sobre a produtividade, indicando que a inoculação pode ser mais eficiente em determinados híbridos ou cultivares, em relação a outros.

Oliboni et al. (2012) ressaltam que a divergência genética está relacionado com o grau de distância entre as populações no conjunto de caracteres genéticos que diferem entre as populações.

Segundo Rotili et al. (2012) os genótipos que fazem parte do mesmo grupo apresentam similaridade genética entre os mesmos. Grupos formados por apenas um indivíduo apontam na direção de que tal indivíduo seja mais divergente em relação aos demais, que facilita a projeção dos trabalhos de melhoramento, encontrando-se genótipos distintos para futuros cruzamentos.

Na comparação entre as doses de N (30 e 120 kg ha⁻¹) para cada processo de inoculação (S Az e C Az), foram observadas mudanças na composição e no número de grupos (Tabela 3), onde em ambos os processos o alto N sempre resultou em um maior número de grupos que o baixo N.

Em ambas as doses de N, na ausência de *Azospirillum* (S Az), os cultivares Anhembi, M 274 e BRS 2022 encontram-se no mesmo grupo e AG 1051 isoladamente em um grupo. Para os demais cultivares, os processos resultaram em agrupamentos distintos. Por outro lado, na presença de *Azospirillum* (C Az), nas duas doses de N, os cultivares M 274, BRS 2022 e PR 27D28 estiveram presentes em um mesmo grupo e BM 3061 pertenceu a um grupo de forma isolada. Para os demais cultivares, os processos resultaram em agrupamentos distintos.

O maior número de grupos formados sob alto N, em ambos os processos de inoculação das sementes (S Az e C Az), pode ter ocorrido em virtude de que, com exceção do cultivar Anhembi, que é uma variedade de polinização aberta, os demais cultivares são híbridos (simples, duplos ou triplos) que são oriundos de programas de melhoramento visando adaptação aos ambientes onde o nível tecnológico empregado seja alto, tais como alto N (120 kg ha⁻¹), onde, nesta condição, são capazes de expressarem todo o seu potencial em resposta à maior disponibilidade de N.

Por outro lado, as diferenças oriundas no agrupamento de cultivares entre as doses de N, independentemente do processo de inoculação, pode ter sido oriunda da disponibilidade de nitrogênio, que permitiu a expressão, ou não, de alelos favoráveis à melhor absorção e aproveitamento do N fornecido direcionado às características avaliadas ao longo do ciclo da cultura, uma vez que, segundo Gallais e Hirel (2004), os alelos responsáveis para o controle genético da eficiência de N são expressos de acordo com o grau de disponibilidade do mesmo.

Bueno et al. (2009), avaliando o controle genético do teor de proteínas nos grãos e de características agrônomicas de milho, e Silva et al. (2015) avaliando a divergência genética de genótipos de milho com e sem adubação nitrogenada em cobertura, utilizando características do estágio vegetativo, concluíram que o controle genético destas características é variável em função da disponibilidade de nitrogênio.

Tabela 3. Agrupamento pelo método de Tocher, com base na distância generalizada de Mahalanobis (D2), considerando dois processos de inoculação das sementes (S Az e C Az) associada a baixo (30 kg ha⁻¹) e alto N (120 kg ha⁻¹), em oito cultivares de milho, em Palmas – TO, nos anos agrícolas 2019/20 e 2020/21.

Grupo	30 kg ha ⁻¹		120 kg ha ⁻¹	
	S Az	C Az	S Az	C Az
I	5; 6; 2; 8; 1; 3	3, 5, 8, 4, 6, 2	3; 5; 2; 4	3; 4; 7; 5
II	4	7	1; 8	2; 8
III	7	1	7	6
IV	---	---	6	1

1= BRS-3046; 2= Anhembi; 3= M-274; 4= PR-27D28; 5= BRS-2022; 6= BM-3061; 7= AG-1051; 8= AG 8088-PRO2, e dois processos de inoculação sem *Azospirillum* (S Az) e com *Azospirillum* (C Az).

Na Tabela 4, estão representados os resultados da contribuição relativa das características pelo método de Singh (1981), nos processos S Az e C Az, em baixo N (30 kg ha⁻¹ N) e alto N (120 kg ha⁻¹ N).

No processo sem o uso da bactéria (S Az), a produtividade de espigas verdes (PREV) e a largura das raízes (LR) foram as que mais contribuíram para a divergência, em ambas as doses de N. Por outro lado, em sementes inoculadas, em baixo N, o peso da raízes (PR), seguida de PREV, e em alto N, o comprimento de espigas despalhadas (CED), seguida de PREV, foram as que mais contribuíram para a divergência genética. Assim, PREV pode ser utilizada em trabalhos futuros, envolvendo ou não o uso do *Azospirillum*, visando a seleção de genótipos contrastantes.

Tabela 4. Contribuição relativa das características para diversidade pelo método de Singh (1981) distância generalizada de Mahalanobis, considerando dois processos de inoculação das sementes (S Az e C Az) a baixo (30 kg ha⁻¹) e alto N (120 kg ha⁻¹), em oito cultivares de milho, em Palmas – TO, nos anos agrícolas 2019/20 e 2020/21.

Características	30 kg ha ⁻¹		120 kg ha ⁻¹	
	S Az	C Az	S Az	C Az
AP	7,23	7,19	1,57	8,67
CR	9,24	3,98	8,34	7,88
LR	17,96	13,03	21,26	16,11
PR	9,69	31,26	12,22	12,29
CED	11,36	9,24	9,61	30,00
DED	8,57	7,56	3,36	3,17
PREV	35,92	27,71	43,60	21,82

Avaliação entre características: altura de plantas (AP), comprimento de raízes (CR), largura de raízes (LR), peso de raízes (PR), comprimento de espigas despalhadas (CED), diâmetro de espigas despalhadas (DED), e produtividade de espigas verdes (PREV).

4 CONCLUSÕES

O *Azospirillum brasiliense* e as doses de N influenciaram na expressão da variabilidade genética;

Os cultivares BM 3061, em alto N, e AG 1051, em baixo N, foram os mais divergentes em ambos os processos de inoculação, sendo promissores como progenitores em futuros trabalhos envolvendo os respectivos processos;

A característica produção de espigas verdes poderá ser útil para novos estudos, visando à seleção de genótipos contrastantes.

REFERÊNCIAS

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

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

BICALHO, DANIELA; VILLAR, BETZABETH SLATER. Efeito da Lei do Programa Nacional de Alimentação Escolar na qualidade nutricional dos cardápios escolares. *Segurança Alimentar e Nutricional*, v. 26, p. e019030-e019030, 2019.

BRACCINI, A.D.L.E.; DAN, L.G.D.M.; PICCININ, G.G.; ALBRECHT, L.P.; BARBOSA, M.C.; ORTIZ, A.H.T. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of bioregulators in maize. *Revista Caatinga*, v.25, n.2, p.58-64, 2012.

BUENO, L. G.; CHAVES, L. J.; OLIVEIRA, J. P. de; BRASIL, E. M.; REIS, A. J. S.; ASSUNÇÃO, A.; PEREIRA, A. F.; RAMOS, M. R. Controle genético do teor proteico nos grãos e de caracteres agronômicos em milho cultivado com diferentes níveis de adubação nitrogenada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 44, n. 6, p. 590-598, 2009.

COELHO, A. M. Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho. *Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo*, 11 p, 2007.

CRUZ, C. D. GENES: software para análise de dados em estatística experimental e em genética quantitativa. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DOS SANTOS, Humberto Gonçalves et al. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

ENTRINGER, GEOVANA CREMONINI et al. Correlação e análise de trilha para componentes de produção de milho superdoce. *Revista Ceres*, v. 61, p. 356-361, 2014.

FALLAS, R.; BERTSCH, F.; ECHANDI, D.; HENRÍQUEZ, C. Caracterización del desarrollo y absorción de nutrientes del híbrido de maíz HC-57. *Agronomía Costarricense*, San José, CR, v. 35, n. 2, p. 33-47, 2011.

- GALLAIS, A.; HIREL, B. An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *Journal of Experimental Botany*, v. 55, n. 396, p. 295-306, 2004.
- GALVÃO, JOÃO CARLOS CARDOSO et al. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. *Ceres*, v. 61, n. 7, 2015.
- HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Embrapa Soja, 2011.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, v.331, n.1-2, p.413-425, 2010.
- INMET: http://sisdagro.inmet.gov.br/sisdagro/app/monitoramento/bhc_consultas em 2020/2021.
- MAGALHÃES, PAULO CÉSAR; SOUZA, TC DE; RODRIGUES, J. A. Cultivo do Milho, Embrapa Milho e Sorgo, Sistema de Produção nº. 1, 2011. Consulta online (julho 2021). <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27330/1/Ecofisiologia.pdf>. 2021.
- 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, p.5, 2011.
- 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.
- OLIBONI, R.; FARIA, M. V.; NEUMANN, M.; BATTISTELLI, G. M.; TEGONI, R. G.; RESENDE, J. T. V. Genetic divergence among maize hybrids and correlations with heterosis and combining ability. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 34, n. 1, p. 37-44, 2012.
- PAIVA JUNIOR, M. C.; PINHO, R. G. von; PINHO, E. V. R. von; RESENDE, S. G.. Desempenho de cultivares para a produção de milho verde em diferentes épocas e densidades de semeadura em Lavras-MG. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 25, n. 5, p.1235-1247. 2001.
- PAIXÃO, S.L.; CAVALCANTE, M.; FERREIRA, P.V.; MADALENA, J.A.S. E PEREIRA, R.G. Divergência genética e avaliação de populações de milho em diferentes ambientes no estado de Alagoas. *Revista Caatinga*, vol. 21, n. 4, p.191-195, 2008.
- PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; GUIMARÃES, P. S.; LÜDERS, R. R.; GALLO, P. B.; SOUZA, A. P.; LABORDA, P. R.; OLIVEIRA, K. M. Capacidade combinatória, divergência genética entre linhagens de milho e correlação com heterose. *Bragantia*, v. 67, n. 3, p. 639-648, 2008.
- 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*, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.
- RAMBO, Lisandro et al. Monitoramento do nitrogênio na planta e no solo para predição da adubação nitrogenada em milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 42, p. 407-417, 2007.

- RITCHIE, S.W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. Piracicaba: Potafos, 2003.
- ROCKENBACH, Maicon Diego Altmayer et al. Eficiência da aplicação de *Azospirillum* brasileiro associado ao nitrogênio na cultura do milho. *Acta Iguazu*, v. 6, n. 1, p. 33-44, 2017.
- ROTILI, E. A.; CANCELLIER, L. L.; DOTTO, M. A.; CARVALHO, E. V.; PELUZIO, J. M. Divergência genética em genótipos de milho, no Estado do Tocantins. *Revista Ciência Agronômica*, v. 43, n. 3, p. 516-521, 2012.
- SALA, V. M. R.; FREITAS, S. S.; DONZELI, V. P.; FREITAS, J. G.; GALLO, P. B.; SILVEIRA, A. P. D. Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. MG, v.29, n.3, p.345-352, 2005.
- SILVA, EDSON CABRAL DA et al. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio na cultura do milho em plantio direto sobre Latossolo Vermelho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 29, p. 353-362, 2005.
- SILVA, Karen Cristina Leite et al. Divergência genética de genótipos de milho com e sem adubação nitrogenada em cobertura. *Revista Agro@mbiente On-line*, v. 9, n. 2, p. 102-110, 2015.
- SIMON, G. A.; KAMADA, T.; MOITEIRO, M. Divergência genética em milho de primeira e segunda safra. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 33, n. 2, p. 449-458, 2012.
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, v. 41, p. 237-245, 1981.
- SUBEDI, K.D.; MA, B.L. Assessment of some major yield-limiting factors on maize production in a humid temperate environment. *Field Crops Research*, Amsterdam, v. 110, n. 1, p. 21-26, 2009.
- ZEFFA, D.M.; PERINI, L.J.; SILVA, M.B.; SOUSA, N.V.; SCAPIM, C.A.; OLIVEIRA, A.L.M.D.; AMARAL JÚNIOR, T.; AZEREDO GONCALVES, L.S. *Azospirillum brasilense* promotes increases in growth and nitrogen use efficiency of maize genotypes. *PLoS One*, V.14, N.4, e0215332, 2019.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A resposta do milho ao uso da bactéria *Azospirillum brasilense* é dependente do cultivar e do ambiente de cultivo. Os cultivares podem aumentar, diminuir ou manter a sua produtividade quando inoculados em condições de níveis menores de nitrogênio. O milho-verde com *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio é uma tecnologia que pode aumentar a produção da cultura de forma sustentável e promover a melhoria da propriedade.

Os benefícios da inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho já foram demonstrados em inúmeros trabalhos, através da melhoria no crescimento, na produtividade, uma maior tolerância às condições ambientais adversas e modificações



na anatomia de raiz e da parte aérea. Entretanto, há discrepâncias de respostas das cultivares, na presença da bactéria e em diferentes doses de nitrogênio, que é oriunda das características genéticas das plantas e das condições de ambiente, como observado no nosso estudo para a finalidade de milho-verde.

A partir dos resultados desses estudos, os cultivares que responderem satisfatoriamente ao uso desta tecnologia, poderão ser utilizados por produtores de milho-verde da região, visando incrementos nos atuais índices de produtividade da cultura, sem que haja custos adicional significativo, sempre aliado à um menor impacto ambiental e associado à uma maior preservação dos recursos naturais do bioma cerrado. Além disso, os cultivares que responderem satisfatoriamente ao uso desta tecnologia, poderão ser utilizados em futuros programas de melhoramento de instituições públicas e privadas visando o desenvolvimento de novos cultivares.

Assim, para o cultivo do milho-verde, faz se necessária à continuidade desses estudos, envolvendo um número maior de cultivares oriundos de diferentes tecnologias tais como as variedades, híbridos simples, duplos e triplos, em diferentes condições ambientais resultantes de diferentes doses de nitrogênio e épocas distintas de semeadura ao longo dos anos no bioma cerrado.

ANEXOS I e II



Anexo 1 – Artigo Publicado

 <p>JAERS International Journal of Advanced Engineering Research and Science</p>	<p>International Journal of Advanced Engineering Research and Science (JAERS) ISSN: 2349-6495(P) 2456-1908(O) Vol-8, Issue-4; Apr, 2021 Journal Home Page Available: https://ijaers.com/ Journal DOI: 10.22161/ijaers Article DOI: https://dx.doi.org/10.22161/ijaers.84.26</p>	
--	--	---

Efficiency and response of corn cultivars to nitrogen, associated or not with *Azospirillum brasilense*

Vanderlan Carneiro Dias¹, Joênes Mucci Peluzio¹, Flávio Sérgio Affêrri¹, Maria Dilma de Lima¹, Domingos Bonfim Ribeiro dos Santos¹, Guilherme Benko¹, Weder Ferreira dos Santos^{2*}, Layanni Ferreira Sodrê Santos², Adriano Silveira Barbosa², Lucas Alves de Faria²

Anexo 2 – Artigo Publicado

 <p>JAERS International Journal of Advanced Engineering Research and Science</p>	<p>International Journal of Advanced Engineering Research and Science (JAERS) Peer-Reviewed Journal ISSN: 2349-6495(P) 2456-1908(O) Vol-8, Issue-8; Aug, 2021 Journal Home Page Available: https://ijaers.com/ Article DOI: https://dx.doi.org/10.22161/ijaers.88.49</p>	
--	---	---

Cultivar x environment interaction on green ear yield in corn inoculated with *Azospirillum brasilense*, at low latitude

Vanderlan Carneiro Dias¹, Joênes Mucci Peluzio¹, Maria Dilma de Lima¹, Guilherme Benko¹, Alessandra Maria de Lima Naoe¹, Evandro Reina¹, Weder Ferreira dos Santos^{2*}, Layanni Ferreira Sodrê Santos², Flávio Sérgio Affêrri³, Wânia Maria Dias Carneiro⁴

Efficiency and response of corn cultivars to nitrogen, associated or not with *Azospirillum brasilense*

Vanderlan Carneiro Dias¹, Joênes Mucci Peluzio¹, Flávio Sérgio Afférri¹, Maria Dilma de Lima¹, Domingos Bonfim Ribeiro dos Santos¹, Guilherme Benko¹, Weder Ferreira dos Santos^{2*}, Layanni Ferreira Sodrê Santos², Adriano Silveira Barbosa², Lucas Alves de Faria²

¹Federal University of Tocantins, Palmas, Tocantins, Brazil.

²Federal University of Tocantins, Gurupi, Tocantins, Brazil.

*Corresponding Author

Received: 09 Jan 2021;

Received in revised form:

06 Mar 2021;

Accepted: 26 Mar 2021;

Available online: 26 Apr 2021

©2021 The Author(s). Published by AI
Publication. This is an open access article
under the CC BY license
(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Keywords— *Zea mays*, natural fixation,
nitrogen.

Abstract— Green corn is an economic and social alternative for small and medium-sized farmers. However, the high cost of the inputs, especially in relation to the use of nitrogen, has advanced studies with nitrogen-fixing bacteria. This study evaluated commercial maize cultivars for the production of green ears, responsive and efficient to nitrogen use, with and without application in *Azospirillum brasilense* seeds. Two trials were installed in the agricultural years 2019/20 and 2020/21 in sowings carried out on 12/04/2019 and 10/12/2020 in this order, at the Federal University of Tocantins, Palmas-TO. In each trial, the experimental design was randomized blocks, with three replications, being the treatments arranged in subdivided plots, where the treatments involving the processes with inoculation of seeds with the bacterium *Azospirillum* (C Az) and without inoculation of seeds (S Az) were allocated in the plots, two doses of nitrogen (30 and 120 kg ha⁻¹ N, considered as low and high N, respectively) and in the subplots eight corn cultivars were allocated in the subplots. Joint variance analysis was performed for each of the seed inoculation processes (C Az and S Az) and then the efficiency and response of corn cultivars were studied for the use of N for each process. The inoculation of seeds with the bacterium promoted changes in the efficiency and response of cultivars regarding the use of nitrogen. The cultivar BRS-3046 was the most important for the cultivation of green ears, since it was efficient and responsive to the use of nitrogen with *Azospirillum brasilense*.

I. INTRODUCTION

The production of green corn (*Zea mays*) is a source of income and food, both for human and animal feed, being used by the consumer market in grain or in natura "green ears" and in the canned industry [1]. In Brazilian cuisine, it is marketed in free fairs, grocery stores and supermarket

chains and even on the borders of highways in the forms of roasting, cooked etc. [2].

In the Northern region of Brazil, specifically in the state of Tocantins, the low productivity of corn occurs, among other factors, due to the presence of high temperatures, low technological level, scarcity of

improved seeds, and the conditions of abiotic stresses, such as climatic and nutritional variations, in the latter case, mainly related to N [3].

The use of nitrogen fertilizers is one of the factors responsible for high corn productivity. According to Lemaire & Gastal [4], N is the element required in greater quantity by corn and the most limiting for grain yield. However, its continuous use out of production costs related to its acquisition, transportation, application installment, etc. [5], [6].

Obtaining genotypes with greater efficiency in the use of nitrogen (EUN) would be a desirable alternative for capitalized agriculture and low use of insums, aiming to reduce waste and scarcity of this mineral element, which could generate economic, environmental, public health and food safety problems [7]. An alternative for the supply of N to plants would be to use plant growth-promoting bacteria (BPCP) for biological nitrogen fixation (FBN), via *Azospirillum brasilense*, which is considered a cheap, clean and sustainable alternative in the supply of N, with benefits for current agriculture [8], besides contributing to the reduction of greenhouse gas emissions [9].

However, there are still contradictions regarding the efficiency of the use of Inoculation of *Azospirillum brasilense* in corn seeds. While [10], it highlights that efficiency can increase by up to 30% in productivity and promote a reduction of up to 15% of nitrogen fertilization [9], reports not obtaining increases in plants when inoculated with bacteria and nitrogen doses. According to Quadros et al. [11], the success of inoculation may vary due to some factors, such as soil type, soil climate and plant genotype.

Several researchers have sought to obtain genotypes with higher EUN for corn ([12], [13], [14], [15], [16], [17]). However, there are few studies involving corn genotypes, responsive and efficient to nitrogen use, after inoculation of seeds with *Azospirillum brasilense*, as well as comparisons involving EUN in cultivars with seeds inoculated and not inoculated with *Azospirillum*.

Thus, the present work was carried out with the objective of studying commercial cultivars of corn for the production of green ears, efficient and responsive to the use of nitrogen, with and without application in the seeds of the bacterium *Azospirillum brasilense*.

II. MATERIAL AND METHODS

Two trials were installed in the experimental area of the Federal University of Tocantins in Palmas-TO (latitude 10°12'46"S, longitude 48°21'37"W and altitude of 260 m), one in the agricultural year 2019/20, in sowing held on

12/04/2019, and another in the agricultural year 2020/21, in sowing held on 10/12/2020.

The climate is tropical humid (Köppen, Aw) which contributes to the high temperatures in the region. During the periods of conduction of the tests, the average maximum, minimum and relative humidity were in the ranges of 35.9 °C; 26.33 °C and 65.96% RH respectively. The cumulative total rainfall in the period was 1,418 mm, with monthly averages of 354.5 mm [18], [19], [20].

The soil of the experimental area, according to the Brazilian Soil Classification System is considered as dystrophic Yellow Red Latosol [21]. Soil samples collected at a depth of 0 to 20 cm, and their chemical analyses revealed the following: pH(CaCl₂) 6.0; clay 15.5%; Site 5.9%; sand 78.6%; M.O 11.63 g dm⁻³; P (Mehlich-1) 9.92 mg dm⁻³; K 0.2 cmol dm⁻³; Ca 1.90 cmol dm⁻³; Mg 1.12 cmol dm⁻³; S.B 3.22 cmol dm⁻³; CTC 5.02 cmol dm⁻³, e V 64.14%.

The experimental design used in each assay was randomized blocks, with three replications. The treatments were arranged in subdivided plots, where the treatments were allocated in the plots with inoculation of seeds with *Azospirillum* (C Az) and without inoculation of seeds (S Az), in the subplots two nitrogen doses (30 and 120 kg ha⁻¹ N, considered as low and high N, respectively) and in the subsub plots eight corn cultivars, three simple hybrids (M-274, PR-27D28, AG 8088-PRO2), two double hybrids (BRS-2022, AG-1051), two triple hybrids (BRS-3046, BM-3061) and a variety of open pollination (Anhembí), all cultivars were acquired in the local trade.

The experimental plots consisted of four rows, with 3.0 m in length, spaced by 1.0 m totaling an area of 12,0 m². At harvest, the two central rows were considered useful, discarding 0.50 m from the extremities.

The tillage was in conventional cultivation, without the need for catenas. At sowing, fertilization was performed in the groove with 70 kg ha⁻¹ of P₂O₅, and 48 kg ha⁻¹ of K₂O, of potassium chloride.

Sowing was performed no-head in the groove, and the seeds were inoculated 30 minutes before planting with the bacterium *Azospirillum brasilense* (AbV5 and AbV6), being 100ml for every 25 kg of seeds, as recommended by the manufacturer. Population density was 50,000 plants per hectare [22].

Weed control was performed using post-emergent herbicide. Subsequently, weeding was performed. It was not necessary to control pests and diseases.

The cover fertilization was performed with ammonia sulfate (21% N), at doses of 30 (low N) and 120 kg ha⁻¹

(high) in the between plots, being half applied in stage V4 and V8 (four and eight true leaves) [23].

In the useful area of each plot, the green ears were harvested as the grains presented 70% to 80% humidity, at stages R3 and R4 [24]. Then the ears were scattered, and the weight of each parcel converted into kg ha⁻¹.

The data of each experiment were submitted to individual variance analysis and, when the homogeneity of variances was verified, the joint analysis was carried out for each of the seed inoculation processes (with and without *Azospirillum brasilense*). Next, the efficiency and response of maize cultivars regarding the use of nitrogen (N) was studied for each process, according to the methodology proposed by [25].

By this methodology, the efficiency corresponded to the yield measurement of green ears in each cultivar in the environment with low nitrogen (BN) (30 kg ha⁻¹ of N). On the other hand, the response to the application of N for each cultivar is represented by the formula below:

$$\text{Response (\%)} = (\text{RAN} - \text{RBN}) / (\text{DEN})$$

RAN = high yield N;

RBN = yield low N and;

DEN = difference between the doses applied (high N – low N, in kg ha⁻¹).

The graphic representation was used in the Cartesian plane to classify the cultivars, and in the axis of the abscissas, the efficiency of the use of N is represented and

in the axis of the ordered the responses to its application. The point of origin of the axes corresponds to the average efficiency and average response of the cultivars. In the first quadrant are represented the efficient and responsive cultivars (I); in the second the Inefficient and Responsive (II); in the third the Non-Efficient and Non-Responsive (III) and in the fourth quadrant the Efficient and Non-Responsive (IV).

The medium of cultivars and nitrogen doses, in the processes with seed inoculation (C Az) and without seed inoculation (S Az) with the bacterium *Azospirillum brasilense*, were compared by Scott-Knott [26] test, at 5% significance using the statistical program SISVAR [27]. For the preparation of the graphics, the Origin Pro 8 program was used.

III. RESULTS AND DISCUSSION

The medium average yield of green ears spread (kg ha⁻¹) of the eight maize cultivars, in two nitrogen levels (30 and 120 kg ha⁻¹ N) and in two inoculation processes with *Azospirillum* (C Az) and without *Azospirillum* (S Az), as well as the efficiency and response indices are presented in Table 1.

Table 1: Average yield of green ears spread (kg ha⁻¹) of eight green corn cultivars, in two levels of nitrogen (30 and 120 kg ha⁻¹ N) and two inoculation processes C Az (with *Azospirillum*) and S Az (without *Azospirillum*), in Palmas - TO, in the 2019/2020 and 2020/2021 harvests.

Cultivars	Low N (30 kg ha ⁻¹)		High N (120 kg ha ⁻¹)		Response	
	C Az	S Az	C Az	S Az	C Az	S Az
BRS-3046	9.037bA	8.920bA	10.784aA	9.974aA	19.41	11.71
Anhembi	7.719bB	8.200bB	9.343aB	9.085aB	14.04	9.83
M-274	7.811bB	8.678bA	9.606aB	9.261aB	19.94	6.47
PR-27D28	8.350bB	7.568bB	9.112aB	9.283aB	8.47	19.05
BRS-2022	8.670bA	8.184bB	9.540aB	9.323aB	9.67	12.65
BM-3061	9.474bA	8.300bB	10.214aA	9.974aA	8.22	18.60
AG-1051	9.136bA	9.380bA	9.614aB	10.071aA	5.31	7.68
AG 8088-PRO2	8.481bB	8.397bB	9.714aB	10.081aA	13.70	18.71
Medium	8.585b	8.578b	9.741 ^a	9.632a	12.35	13.09
General Medium			C Az 9.163 e S Az 8.977			
CV (%)			C Az 2.20 e S Az 2.29			

- 1- Medium between n doses, for the same inoculation process and for the same cultivar, followed by the same lowercase letter, in the line belong to the same statistical group by test [26], at 5% significance.
- 2- Medium between cultivars, for the same n dose and for the same inoculation process, followed by the same capital letter in the column belong to the same statistical group by test [26], at 5% significance.

Os coeficientes de variação CV (%) foram de C Az = 2.20 e S Az = 2.29 (tabela 1), o que indica uma ótima precisão na condução do ensaio experimental [28].

The comparative study between n doses in each inoculation process revealed that both in the C Az process and in the S Az process, all cultivars presented a higher yield of ears under high N (120 kg ha⁻¹).

The N is the nutrient with the highest demand in corn crop [29], being present in relevant functions in plant metabolism, such as protein synthesis, ionic absorption, photosynthesis, respiration, cell multiplication and differentiation, ultimately reflecting on plant characteristics related to growth and development, which directly or indirectly affect crop yield [30], [31]. [32] approximately 70 to 77% of what is absorbed is exported to the grains.

The results are in agreement with [17], who studied the efficiency and response of corn cultivars to nitrogen use in the south of the state of Pará, for silage production, and also verified a better performance of all cultivars when under cultivation in high N.

When comparing the cultivars, within each inoculation process and within each n dose, it can be observed that two groups of means were always formed, which differed in their composition. In this sense, when the seeds (C Az), both in high N and low N, the cultivars BRS-3046 and BM-3061 were the ones that stood out the most. On the other hand, in the process without inoculation (S Az), in high and low N, BRS-3046 and AG-1051 were the most productive.

It is emphasized the higher productivity of BRS-3046 and the lowest yields of the variety Anhembi and PR-27D28 in all doses of N and in all inoculation processes. The lowest yield of the cultivar Anhembi occurred because the varieties are known as open pollination cultivars and are obtained by the free pollination of a group of selected individuals. Thus, they are highly heterozygous and heterogeneous, presenting greater genetic variability and lower uniformity and productivity [33].

According to Fancelli [34], the agronomic and productive performance of corn cultivars are directly characterized by the different phenological phases of the crop, combined with its association with nutrients.

The efficiency and response to nitrogen fertilization of cultivars in the process without inoculation of seeds with *Azospirillum* (S Az), related to the production of green ears, are shown in Fig. 1a.

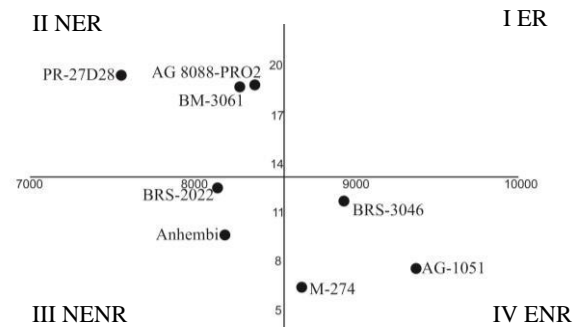


Fig. 1a S Azosp

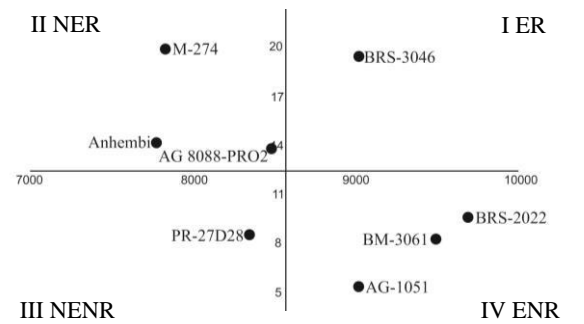


Fig. 1b C Azosp

Fig 1: Efficiency and response of nitrogen application associated with processes with and without *Azospirillum* brasilense (C Az and S Az) in eight green corn cultivars in Palmas - TO, in the 2019/2020 and 2020/2021 harvests.

The cultivars M-274, AG-1051 and BRS-3046 (Quadrant IV) were considered as efficient to the application of N, because they presented production of green ears under low N (BN) higher than the general average of cultivars in BN, and not responsive, that is, they are recommended for properties that adopt low technological level [35].

The cultivars AG 8088-PRO2, PR-27D28 and BM-3061 (Quadrant II) and Anhembi and BRS-2022 (Quadrant III) were classified as inefficient. Of these, the first three are responsive and the last two are non-responsive. Inefficient and responsive cultivars are indicated for use by producers with a high technological level [17]. On the

other hand, inefficient and non-responsive cultivars are not indicated for use in any agricultural properties [36].

In studies carried out in the South of the State of Pará that evaluated the efficiency and response of eleven commercial maize cultivars to nitrogen fertilization for silage production, they also obtained similar classifications for cultivars BRS-3046 and Anhembi, regarding nitrogen efficiency [17].

It is emphasized that without inoculation of seeds with *Azospirillum* (S Az), efficient and responsive cultivars (Quadrant I) were not obtained. This fact did not occur when the seeds were inoculated, revealing the importance of *Azospirillum brasilense* in the performance of the cultivars.

Corn germplasm consists of Creole breeds, adapted populations and introduced materials and is characterized by a wide genetic variability, which can interfere with the efficiency of the use of N [37].

Fernandes et al. [38], working with six maize cultivars, also showed significant differences in the efficiency of N utilization by plants, due to genetic variations among genotypes [39].

The efficiency and response to nitrogen fertilization of cultivars in the process with inoculation of seeds with *Azospirillum* (C Az), for the production of green ears, are shown in Fig. 1b.

The cultivars BRS-3046 (Quadrant I) and BRS-2022, BM-3061 and AG-1051 (Quadrant IV) were considered as efficient to the application of N. Of These, BRS-3046, highlighted for being efficient and responsive to the application of N and the others not responsive. According to Fidelis et al. [36] genotypes considered efficient and responsive are recommended for low to high technological agricultural crops, thus being economically viable for small farms and family farming.

The cultivars M-274, Anhembi and AG 8088-PRO2 (Quadrant II) and PR-27D28 (Quadrant III) were classified as inefficient. Of these, the first three are responsive and PR-27D28 non-responsive.

The comparative study between the processes of efficiency and n response with the inoculation of seeds (C Az) (Fig. 1b) and without inoculation of seeds (S Az) (Fig. 1a) revealed changes in the classifications of all cultivars, except for cultivars AG 8088-PRO2 and AG-1051.

The cultivars BM-3061 and BRS-2022, which were classified as inefficient to the application of N in the process without inoculation of seeds (S Az), in the process with inoculation of seeds with *Azospirillum* (C Az) were classified as efficient. This fact may have come from a greater availability of N via symbiotic fixation and, also,

from a greater absorption of nitrate available in the soil by the greater development of the root system of plants.

Bacteria of the genus *Azospirillum* spp., are able to stimulate plant growth by biological fixation of N and the increase in nitrate reductase activity [8], [40], as well as can alter the morphology and growth of the roots, enabling the exploration of a larger volume of soil [41], [42]. This higher root growth, which occurs due to the greater presence of indolic acid [43], may increase the absorption of minerals from the soil [44], including nitrate, P and K [41], [45] resulting in a higher production of dry matter, which combined with a greater accumulation of N in the plant, will promote increases in production [46], [47], [48].

For Chotte et al. [49], in soils with a deficiency of N, the biological fixation of N (FBN) can supply the deficiency of this nutrient in the soil, so that the occurrence of diazotrophic microorganisms in high numbers may be essential for the FBN is effective.

The efficiency of the use of *Azospirillum* spp., in the development of corn crop, has been the subject of research for several years. In this sense, [50], analyzing data from 22 years of field studies, they concluded that bacteria of the genus *Azospirillum* spp., tend to promote yield gains for corn crop in the most varied climate and soil conditions. These same authors also point out that the influence of *Azospirillum* spp., is not only related to the fact that these microorganisms act in biological nitrogen fixation, but also act as growth promoters, helping to increase the contact surface of the root system of plants, which culminates in greater absorption of water and nutrients by the roots.

Segundo Hungria [8], *Azospirillum* probably results in larger seedlings, with rapid initial growth, and in plants with a larger number of roots and longer roots, which provides a greater amount of dry matter in the shoot (28%) and a higher grain yield 7.1% (average of 221 Local). Also according to this same author, the bacteria of the genus *Azospirillum* are considered associative and excrete only a part of the nitrogen fixed directly to the associated plant, which will partially supply the needs of plants with N, which is still dependent on the hybrid used, edaphoclimatic conditions and adequate crop management. Thus, in addition to the fixation of nitrogen from associative bacteria, nitrogen fertilization is needed for the plant to obtain all the nitrogen necessary for its development.

Regarding the N response, the cultivars Anhembi, M-274 and BRS-3046 that were classified as non-responsive to the application of N in the process without inoculation of seeds (S Az), when seeds were inoculated with *Azospirillum* (C Az), were classified as responsive. On the

other hand, PR-27D28 and BM-3061, which were responsive to the application of N in the process without inoculation of seeds (S Az), became non-responsive when the seeds were inoculated with *Azospirillum* (C Az).

The genotype of the plant can influence the efficiency of N fixation Sala et al. [51], indicating a differential response of genotypes according to the form of inoculation used [52]. Thus, measures such as identification, selection and use of less demanding maize genotypes for element N are relevant tools from the economic and environmental point of view [53].

Salomone & Dobereiner [54] evaluating different maize genotypes inoculated with *Azospirillum* obtained different responses regarding inoculation under yield in production, highlighting that there are variations in the interactions between corn genotypes and diazotrophic bacteria.

Chotte et al. [49] when evaluating 32 maize cultivars for efficiency in nitrogen absorption and association with diazotrophic bacteria, they found that the occurrence of a high population of diazotrophic bacteria and the low response to nitrogen fertilization together with a large accumulation of N under conditions of low fertility, may indicate a promising cultivar for future studies of selection of efficient cultivars for cultivation in soils with low nitrogen availability.

Reis et al. [55] reported that, in many cases, the absence of response to inoculation of diazotrophic bacteria in grasses has been attributed to the use of inadequate strains. However, there is consensus that the genotype of the plant is the key factor to obtain the benefits derived from the BNF, combined with the selection of efficient strains.

IV. CONCLUSION

The inoculation of seeds with the bacterium *Azospirillum brasilense* promoted changes in the efficiency and response of cultivars regarding the use of nitrogen.

The cultivars efficient to the use of N, in the presence of *Azospirillum brasilense*, were BM-3061, BRS-2022 and AG-1051.

The cultivar BRS-3046 stood out and obtained its best increment for the cultivation of green ears, since it was efficient and responsive to the use of nitrogen in the presence of *Azospirillum brasilense*.

Breeding charts will be useful for the development of more efficient and nitrogen-responsive cultivars with the use of *Azospirillum*.

REFERENCES

- [1] Ranum P. Pena-Rosas J.P. Garcia-Casal M.N. (2014). Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, (1312), 105-112.
- [2] Contini E. Mota M.M. Marra R. Borghi E. Miranda R.A. Silva A.F. Silva D.D. Machado J.R.A. Cota L.V. Costa R.V. Mendes S.M. (2019). Milho: caracterização e desafios tecnológicos. Brasília: Embrapa.
- [3] Santos W.F. Afférrri F.S. Peluzio J.M. (2014). Eficiência ao uso do nitrogênio e biodiversidade em genótipos de milho para teor de óleo. *Revista Ciências Agrárias*, 57(3), 312-317.
- [4] Lemaire G. Gastal F.N.N. (1997). Uptake and distribution in plant canopies. In: LEMAIRE, G. (Ed.). *Diagnosis of the nitrogen status in crops*. Berlin: Springer, p.3-43.
- [5] Matoso S.C.G. Silva A.N. Pereira E.C.F. Colleta Q.P. Maia E. (2012). Frações de carbono e nitrogênio de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico sob diferentes usos na Amazônia brasileira. *Acta Amazônica*, 42(2), 231-240.
- [6] Silva Junior J.A.M. (2020). Inoculação com *azospirillum* brasileiro na cultura do milho associada a diferentes doses de adubação nitrogenada. Disponível em: <<http://repositorio.aee.edu.br/jspui/handle/aee/9509>>. Acesso em: 15 abr. 2021.
- [7] Roesch L.F. Camargo F. Selbach P. Saccol de Sá E. Passaglia L. (2005). Identificação de cultivares de milho eficientes na absorção de nitrogênio e na associação com bactérias diazotróficas. *Ciência Rural*, 35(04), 924-927.
- [8] Hungria M. (2011). Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja. 36p.
- [9] Souza S. (2019). Inoculante reduz uso de nitrogênio em milho e aumenta produtividade em mais de 100%. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/busca-de-noticias/-/noticia/45031761/inoculante-reduce-uso-de-nitrogenio-em-milho-e-aumenta-produtividade-em-mais-de-100>>. Acesso em: 16 abr. 2021.
- [10] Araújo R.M. Araújo A.S.F. Nunes L.A.P.L. Figueiredo M.V.B. (2014). Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. *Ciência Rural*, 44(9), 1556-1560.
- [11] Quadros P.D. Roesch L.F.W. Silva P.R.F. Vieira V.M. Roehrs D.D. Camargo F.A.O. (2014). Desempenho agrônomo a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. *Revista Ceres*, 61(2), 209-218.
- [12] Cancellier L.L. Afférrri F.S. Carvalho E.V. Dotto M.A. Leão F.F. (2011). Eficiência no uso de nitrogênio e correlação fenotípica em populações tropicais de milho no Tocantins. *Revista Ciência Agronômica*, 42(1), 139-148.
- [13] Carvalho R.P. Pinho R.G.V. Davide L.M.C. (2012). Eficiência de cultivares de milho na absorção e uso de nitrogênio em ambiente de casa de vegetação. *Semina: Ciências Agrárias*, 33(6), 2125-2136.
- [14] Santos W.F. Peluzio J.M. Afférrri F.S. Sodr e L.F. Hackenhaar C. Reina E. (2016). Eficiência e resposta ao uso do nitrogênio em genótipos de milho para rendimento de proteína. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, 10(4), 6-11.

- [15] Santos W.F. Santos L.F.S. Pelúzio J.M. Pereira J.F. Reis I. M. Silva R.M. (2017). Resposta e eficiência ao uso do nitrogênio em genótipos de milho tropicais. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, 11(4), 7-12.
- [16] Santos, W. F.; Afférrri, F. S.; Pelúzio, J. M.; Sodr , L. F.; Rotili, L. A.; Cerqueira, F. B.; Ferreira, T. P. S. (2018b). Genetic diversity in maize under nitrogen restriction conditions. *Journal of bioenergy and food science*, 5(2), 44-53.
- [17] Santos W.F. Santos L.F.S. Pelúzio J.M. Silva R.M. Sales V.H.G. Melo M.P. (2019). Cultivo para alto e baixo nitrogênio em genótipos de milho no Tocantins. *Revista Cereus*, 11(2), 12-20.
- [18] SEAGRO - Secretaria da Agricultura, Pecuária e Aquicultura. Tocantins deve bater novo recorde na produção do milho safrinha em 2020. 2020. Disponível em: <<https://seagro.to.gov.br/noticia/2020/6/16/tocantins-deve-bater-novo-recorde-na-producao-do-milho-safrinha-em-2020/>>. Acesso em: 15 abr. 2021.
- [19] CLIMATEMPO - Climatologia e histórico de previsão do tempo em Palmas. Climatologia em Palmas, BR. 2021. Disponível em: <<https://www.climatempo.com.br/climatologia/593/palmas-to>>. Acesso em: 16 abr. 2021.
- [20] INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. Balanço Hídrico de Cultivo e Perda de Produtividade. 2021. Disponível em: <http://sisdagro.inmet.gov.br/sisdagro/app/monitoramento/bh> c>. Acesso em: 15 abr. 2021.
- [21] Santos H.G. Jacomine P.K.T. Anjos L.H.C. Oliveira V.A. Lumbreras J.F. Coelho M.R. Almeida J.M. Filho J.C.A. Oliveira J.B. CUNHA T.J.F. (2018a). Sistema brasileiro de classificação de solos. 5 ed., Brasília: Embrapa, 366p.
- [22] Paiva Junior M.C. Pinho R.G. Pinho E.V.R. Resende S.G. (2001). Desempenho de cultivares para a produção de milho verde em diferentes épocas e densidades de semeadura em Lavras-MG. *Ciência e Agrotecnologia*, 25(5), 1235-1247.
- [23] Ritchie S.W. Hanway J.J. Benson G.O. (2003). Como a planta de milho se desenvolve. Piracicaba: Potafos.
- [24] Fornasieri Filho D. (2007). Manual da cultura do milho. Jaticabal: Funep. 576p.
- [25] Fageria N.D. Kluthouski J. (1980). Metodologia para avaliação de cultivares de arroz e feijão para condições adversas de solo. Brasília: EMBRAPA/CNPAF, 22p.
- [26] Scott A. Knott M. (1974). Cluster analysis method for grouping means in analysis of variance. *Biometrics*, 30, 507-512.
- [27] Ferreira D.F. (2011). Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 35(6), 1039-1042.
- [28] Pimentel-Gomes F. (2009). Curso de Estatística Experimental. 15. ed. Piracicaba: FEALQ. 451 p.
- [29] Silva N.R. (2013). Biomassa, eficiência de conversão, recuperação aparente de nitrogênio e composição bromatológica da silagem de cultivares de milho submetidos à adubação nitrogenada. 2013. Disponível em: <<http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/3109>>. Acesso em: 15 abr. 2021.
- [30] Gazola D. Zucareli C. Silva R.R. Fonseca I.C.B. (2014). Aplicação foliar de aminoácidos e adubação nitrogenada de cobertura na cultura do milho safrinha. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 18(7), 700-707.
- [31] Okumura R.S. Mariano D.C. Zaccheo P.V.C. (2011). Use of nitrogen fertilizer in corn. *Applied Research & Agrotechnology*, 4(2), 226-244.
- [32] Coelho A.M. (2007). Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. 11p.
- [33] Fritsche-Neto R. M ro G.V. (2015). Escolha do cultivar   determinante e deve considerar toda informa o disponível. *Revista Visão Agrícola*, (9), 12-15.
- [34] Fancelli A.L. (1986). Plantas Alimentícias: guia para aula, estudos e discussão. Piracicaba: ESALQ/USP.
- [35] Sodr  L.F. Ascêncio S.D. Peluzio J.M. Aff rri F.S. Santos W.F. Carvalho E.V. (2016). Cultivo para alto e baixo nitrogênio em genótipos de milho no Tocantins visando a produ o de  leo. *Brazilian Journal of Agriculture-Revista de Agricultura*, 91(2), 174-183.
- [36] Fidelis R.R. Miranda G.V. Erasmo E.A.L. (2014). Classifica o de popula es de milho quanto a eficiência e resposta ao uso de fósforo. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, 19(2), 59-64.
- [37] Majerowicz N. Pereira J.M.S. Medici L.O. Bison O. Pereira M.B. Santos Júnior U.M. (2002). Estudo da eficiência de uso do nitrogênio em variedades locais e melhoradas de milho. *Revista Brasileira de Botânica*, 25(2), 129-136.
- [38] Fernandes F.C.S. Buzetti S. Arf O. Andrade J.A.C. (2005). Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 4(2), 195- 204.
- [39] Alföldi Z. Pinter L. Feil G. (1992). Acúmulo e parti o de biomassa e carboidratos solúveis em mudas de milho em fun o da fonte de nitrogênio, concentra o de nitrogênio e cultivar. *Journal of Plant Nutrition*, 15(11), 2567-2583.
- [40] Iniguez A.L. Dong Y. Triplett E.W. (2004). Nitrogen fixation in wheat provided by *Klebsiella pneumoniae* 342. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17, 1078-1085.
- [41] Bashan Y. Holguin G. (1997). *Azospirillum* - plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology*, 43(2), 103-121.
- [42] Zaied K.A. (2003). Rendimento e assimila o de nitrogênio em trigo de inverno inoculado com novos inoculantes recombinantes de rizobactéria. *Journal of Biological Sciences*.
- [43] Andrade A.T. Condé A.B.T. Costa R.L. Pomela A.W.B. Soares A.L. Martins F.A.D. Lima W.T. Oliveira C.B. (2016). Produtividade de milho em fun o da redu o do nitrogênio e da utiliza o de *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 15(2), 229-239.
- [44] Okon Y. Labandera-Gonzalez C.A. (1994). Aplica es agronômicas de *Azospirillum*: uma avalia o de 20 anos de inocula o em campo mundial. *Biologia do Solo e Bioquímica*, 26(12), 1591-1601.
- [45] DE-Bashan L.E. Bashan Y. (2004). Recent advances in removing phosphorus from wastewater and its future use as fertilizer (1997-2003). *Water research*, 38(19), 4222-4246.

- [46] Marini D. Guimarães V.F. Dartora J. Lana M.C. Pinto Júnior A.S. (2015). Growth and yield of corn hybrids in response to association with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization. *Revista Ceres*, 62, 117-123.
- [47] Müller T.M. Sandini I.E. Rodrigues J.D. Novakowski J.H. basi S. Kaminski T.H. (2016). Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. *Ciência Rural*, 46(2), 210-215.
- [48] Portugal J.R. Arf O. Peres A.R. Gitti D.C. Rodrigues R.A.F. Garcia N.F.S. Garé L.M. (2016). *Azospirillum brasilense* promotes increment in corn production. *Academic Journals*, 11(19), 1688-1698.
- [49] Chotte J.L. Schwartzmann A. Bally R. Monrozier L.J. (2002). Changes in bacteria communities and *Azospirillum* diversity in soil fraction of a tropical soil under 3 or 19 years of natural fallow. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 1083–1092.
- [50] Okon Y. Vanderleyden J. (1997). Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. *ASM News*, 63(7), 364-370.
- [51] Sala V.M.R. Freitas S.S. Donzeli V.P. Freitas J.G. Gallo P.B. Silveira, A.P.D. (2005). Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 29(3), 345-352, 2005.
- [52] Bashan Y. De-Bashan L.E. (2010). How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment. *Advances in agronomy*, 108, 77-136, 2010.
- [53] Reis Junior F.B. Machado C.T.T. Machado A.T. Sodek L. (2008). Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32, 1139–1146.
- [54] Salomone I.E.G. Döbereiner J. (1996). Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. *Biology and Fertility of Soils*, 21(3), 193-196.
- [55] Reis V.M. Baldani J.I. Baldani V.L. Döbereiner J. (2000). Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. *Critical Reviews in Plant Science*, 19(3), 227-247.

Cultivar x environment interaction on green ear yield in corn inoculated with *Azospirillum brasilense*, at low latitude

Vanderlan Carneiro Dias¹, Joênes Mucci Peluzio¹, Maria Dilma de Lima¹, Guilherme Benko¹, Alessandra Maria de Lima Naoe¹, Evandro Reina¹, Weder Ferreira dos Santos^{2*}, Layanni Ferreira Sodr  Santos², Flávio Sérgio Aff rri³, W nia Maria Dias Carneiro⁴

^{1,2}Federal University of Tocantins, Palmas, Tocantins, Brazil.

³Federal University of São Carlos, Buri, São Paulo, Brazil.

⁴City Hall Palmas Tocantins, Brazil.

*Corresponding Author

Received: 03 Jul 2021,

Received in revised form: 16 Aug 2021,

Accepted: 20 Aug 2021,

Available online: 29 Aug 2021

 2021 The Author(s). Published by AI
Publication. This is an open access article
under the CC BY license
(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Keywords— *biological nitrogen fixation, phenotypic stability, Zea mays.*

Abstract — *The cultivation of green corn has been increasingly important for small farmers, due to its economic and social importance, derived from consumption in natura in the form of green ears. Thus, the present work was carried out to study the behavior of corn cultivars, in the presence and absence of the bacterium *Azospirillum brasilense*, under different nitrogen doses, aiming at the productivity of green ears in cultivation under low latitude. Two trials were installed, one in the agricultural year 2019/20 and the other in the agricultural year 2020/21, in the central region of the State of Tocantins. The experimental design used in each assay was randomized blocks, with three replications. The treatments were arranged in subdivided plots, where treatments involving seed inoculation with the bacterium were allocated in the plots *Azospirillum* (C Az) and without inoculation of seeds (S Az), in the subplots five doses of nitrogen (00, 30, 60, 90 and 120 kg ha⁻¹ N) and in the subplots eight maize cultivars. For each process (C Az and S Az), an adaptability and stability study were carried out using the Eberhart & Russell (1966) and environmental stratification by the method of Lin (1982), where the combination of each dose of N, in each assay and in each process (C Az e S Az) represented a distinct environment. There was a differential response of the cultivars between the processes with and without seed inoculation. Seed inoculation resulted in a higher increase in the productivity of green ears. The cultivar BRS-3046 and AG-1051 adapted to the environments.*

I. INTRODUCTION

The corn (*Zea mays* L) has aroused great economic interest due to its nutritional properties, being used in human food, mainly in natura like green corn (roasted, baked, porridge, pamonha, bled and other), which has

driven social, economic, and cultural development in small and medium-sized properties [1].

To obtain a high productivity of corn, nitrogen fertilization is indispensable, since nitrogen is the mineral nutrient required in greater quantity by the crop, because it

acts on root growth and vegetative development, directly participating in the biosynthesis of proteins and chlorophylls, which reflects in productivity gains [2].

However, due to the high cost of this intake, combined with the environmental risk arising from its use, there is a need to incorporate technologies for rationalization and awareness in the use of nitrogen fertilizers [3]. In this sense, one of the alternatives would be the use of diazotrophic bacteria capable of making atmospheric N available to the corn plant, enabling crop growth and increased grain yield [4], as well as a reduction in the use of nitrogen fertilizers and the final cost of crop implantation [1].

Second Moreira et al. [5], diazotrophic bacteria can contribute to plant growth through nitrogen supply, phosphate solubilization and increased nitrate reductase activity [6]. In addition, these bacteria may result in changes in the morphology of the root system, in the number of radículas and diameter of the roots, probably due to the production of growth-promoting substances: auxins, gibberelins and cytokinins [7].

Increases in grain yield in corn crop when inoculated with *Azospirillum brasilense* have been observed in several studies involving maize [8]. To produce green corn, Araújo et al. [9], when studying the effect of inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with nitrogen fertilization, there was a significant increase in the number and mass of commercial ears with the inoculation of *A. brasilense*, treatment without inoculation, and that the combination of inoculation with *A. brasilense* and nitrogen increases by more than 30% the production of green corn cobs.

In a series of environments represented by years, locations, sowing times, different forms of management, fertilization and others, cultivar interaction x environment (C x A) that influences the performance of cultivars, hindering the selection process of those with superior characteristics. Aiming to mitigate the effect of this interaction, the identification and use of genotypes with wide adaptability and stability [10] and the identification of similar environments, which makes the improvement program more agile and reduces costs [11], have been tools used.

In this sense, the identification of green corn cultivars with adaptability and specific stability to different environments, combined with the use of new technologies, such as nitrogen-fixing bacteria, could result in increases in current productivity indices, as well as promote a rationalization in the use of nitrogen fertilizers.

However, after the economic, social importance and they're in natura consumption in the form of green ears,

there are few studies involving the green corn crop, for this purpose, aiming at the identification of cultivars, associated with the use of new technologies, such as nitrogen-fixing bacteria, in the presence of different nitrogen doses, under low latitude conditions, to which the present study is proposed.

II. MATERIAL AND METHODS

The present study was carried out in the experimental area of the Federal University of Tocantins - UFT, campus of Palmas – TO (altitude of 230 m, latitude 10°12'54"S and longitude 48°20'02"W). Two tests were installed, the first season being in the agricultural year 2019/20, in sowing carried out on 12/04/2019, and the second season in the agricultural year 2020/21, in sowing carried out on 10/12/2020.

The soil of the experimental area, where the tests were carried out, according to the Brazilian Soil Classification System is considered as dystrophic Yellow Red Latosol. Soil samples collected at a depth of 0 to 20 cm showed, on average, the following characteristics: pH (CaCl₂) 6,0; Clay 15,5%; Silte 5,9%; Sand 78,6%; M.O 11,63 g dm⁻³; P (Mehlich⁻¹) 9,92 mg dm⁻³; K 0,2 cmol dm⁻³; Ca 1,90 cmol dm⁻³; Mg 1,12 cmol dm⁻³; S.B 3,22 cmol dm⁻³; CTC 5,02 cmol dm⁻³, e V 64,14%. It is emphasized that the two tests were performed in adjacent areas, in the same location.

Table 1 shows the average rainfall temperatures and precipitations recorded in the agricultural years 2019/2020 and 2020/2021 in the UFT experimental station [12].

Table 1. Average temperatures (°C) and rainfall (mm) in the conduction period of the tests in the 2019/2020 and 2020/2021 harvests in Palmas - TO.

Period	Crop 2019/2020		Crop 2020/2021	
	Temp. average (°C)	Precipitation (mm)	Temp. average (°C)	Precipitation (mm)
November	28.6 °C	198 mm	27.9 °C	52 mm
December	26.9 °C	298 mm	26.8 °C	258 mm
January	26.8 °C	308 mm	26.3 °C	349 mm
February	26.9 °C	342 mm	24.2 °C	485 mm
March	26.5 °C	420 mm	26.1 °C	511 mm
Average	27.0 °C	314 mm	26.4 °C	338 mm

Source: [12].

The experimental design used in each assay was randomized blocks, with three replications. The treatments were arranged in subdivided plots, where treatments with

seed inoculation were allocated in the plots with *Azospirillum* (C Az) and without inoculation of seeds (S Az), in the subplots five doses of nitrogen (00, 30, 60, 90 and 120 kg ha⁻¹ N) and in the subsubplots eight maize cultivars, three of which were simple hybrids (M-274, PR-27D28, AG 8088-PRO2), two double hybrids (BRS-2022, AG-1051), two triple hybrids (BRS-3046, BM-3061) and a variety of open pollination (Anhembí), all acquired in the local trade. The experimental plots consisted of four rows, with 3,0 m length, spaced by 1,0 m totaling an area of 12,0 m².

The tillage was in conventional cultivation, without the need for cathes. At sowing, fertilization was performed in the groove with 70 kg ha⁻¹ from P₂O₅, and 48 kg ha⁻¹ from K₂O potassium chloride.

Sowing was performed no-side in the groove, and the seeds were inoculated 30 minutes before planting with the bacterium *Azospirillum brasilense* (AbV5 and AbV6), being 100ml for each 25 kg as recommended by the manufacturer. Population density was 50,000 plants per hectare [13].

Weed control was performed using a post-emergent herbicide. It was not necessary to control pests and diseases. Cover fertilization was performed with ammonia sulfate (21% from N), in the doses (00, 30, 60, 90 and 120 kg ha⁻¹ N), between the lines of the plots, half of which

were applied to the V4 and half in V8 (four and eight true leaves, respectively) [14].

Based on the useful area of the plot (two central rows), green ears were collected as the grains were between the stages of milky grain (grain with about 80% moisture) and pasty grain [15]. Then the ears were scattered, and the weight of each parcel converted into kg ha⁻¹.

After obtaining the productivity data of the green ears, statistical analyses were performed for each process, i.e., for the process with inoculation of the seeds with *Azospirillum* (C Az) and for the process without inoculation of seeds (S Az). Initially, individual variance analysis was performed and, later, joint analysis of the assays was performed, in which the smallest residual mean square did not differ by more than seven times the largest. Then, for each process, adaptability and stability analyses were performed according to Eberhart & Russel [16], as well as environmental stratification according to the method of grouping environments based on the Lin algorithm [17].

In statistical analysis, in each process, the combination of each dose of N (kg by ha⁻¹) in each of the trials (sowing time), represented a distinct environment. Thus, for each process (C Az and S Az), ten environments were obtained from the combination of the five doses of N with the two assays, as shown in Table 2.

Table 2. Environments derived from the combination of two assays (sowing times) and five nitrogen doses in cover (kg by ha⁻¹) in seed inoculation processes (C Az and S Az) for productivity of green ears in Palmas - TO.

Environment	Epoch 1	Dose N	Environment	Epoch 2	Dose N
1	04/12/2019	00	6	10/12/2020	00
2	04/12/2019	30	7	10/12/2020	30
3	04/12/2019	60	8	10/12/2020	60
4	04/12/2019	90	9	10/12/2020	90
5	04/12/2019	120	10	10/12/2020	120

Statistical analyses were performed using the statistical computer program Genes [18].

III. RESULTS AND DISCUSSION

For the process without inoculation of seeds (S Az) the analysis of joint variance showed significant effect of environment, interaction Cultivars x Environments, and not significant effect for cultivars. On the other hand, for the process with inoculation of seeds (C Az) there was significant effect for cultivars, environments, and cultivars x environments (Table 3).

Table 3. Summary of the analysis of joint variance to produce green ears in two seed inoculation processes S Az and C Az, and in eight maize cultivars submitted to five levels of N in the agricultural years 2019/20 and 2020/21. Palmas - TO.

Source Variation	Degree of freedom	Square medium	
		S Az Epoch 1 and 2	C Az Epoch 1 and 2
Blocks/Environment	18 18	37066	97448

Cultivars	7	7	2456682 ^{ns}	6674529*	1 x 5	-4.23	104.23	1 x 5	18.57	81.43
Environments	9	9	83624940*	43307681*	1 x 6	1.93	98.07	1 x 6	4.89	95.11
					1 x 7	-24.72	124.73	1 x 7	-18.37	118.37
Cult. x Env.	47	44	1828492**	2194987**	1 x 8	-20.16	120.16	1 x 8	-19.89	119.89
Residue	101	93	64984	98807	1 x 9	-26.00	126.00	1 x 9	-23.89	123.89
CV (%)			2.97	3.49	1 x 10	-29.99	129.99	1 x 10	-28.95	128.95
General Average			8.571	9.006	2 x 3	32.78	67.22	2 x 3	24.29	75.71

ns, **, *: not significant and significant to 1% and 5%, respectively, by the F test.

The significant effect of cultivars, only for the process with inoculation of the process seeds (C Az), indicates that the bacterium was able to promote conditions for the differentiation of cultivars. Second Hungria [19] the effects of inoculation of maize seeds on grain yield depend on plant genetic characteristics, strains, and environmental conditions. Towards Quadros et al. [20], the success of inoculation will be as a function of the site, soil type, climate of the region and genotype of the plants.

The coefficients of variation (CV) obtained were 2.97 the 3.49% (S Az and C Az) respectively (Table 3) and are in line with the studies carried out by Gurgel et al. [21] and corn experiments.

For the vast majority of pairs of environments, in both processes, the interaction was of the complex type (% FC) (Table 4), indicating that cultivars exhibit different behaviors due to environmental factors arising from years of and doses of N Distinct. Thus, studies of stability, adaptability and environmental stratification were carried out.

When the fraction of the complex type (%FC) has a very large weight over the C x A interaction, the great difference between environments is evident, and reinforces how much it is necessary to evaluate cultivars in various conditions [10].

Table 4. Estimates of the simple (%FS) and complex (%FC) fractions of the cultivar x environments interaction, between pairs of evaluation environments, in two inoculation processes of seeds S Az and C Az, evaluated for green ear yield, in ten environments, according to the method of Cruz & Castoldi [11].

Par	S Az		C Az		
	%FS	% FC	Par	%FS	% FC
1 x 2	-4.24	104.24	1 x 2	-15.52	115.52
1 x 3	0.85	99.14	1 x 3	-8.51	108.51
1 x 4	-11.95	111.95	1 x 4	6.11	93.89

2 x 4	0.27	99.73	2 x 4	13.26	86.74
2 x 5	8.79	91.21	2 x 5	18.94	81.06
2 x 6	29.05	70.95	2 x 6	19.56	80.44
2 x 7	43.89	56.11	2 x 7	28.03	71.97
2 x 8	7.04	92.96	2 x 8	35.65	64.35
2 x 9	8.59	91.41	2 x 9	32.46	67.54
2 x 10	15.46	84.54	2 x 10	25.69	74.31
3 x 4	-15.02	115.02	3 x 4	30.42	69.58
3 x 5	33.99	66.01	3 x 5	12.43	87.57
3 x 6	10.84	89.16	3 x 6	29.52	70.48
3 x 7	19.45	80.55	3 x 7	50.27	49.73
3 x 8	14.44	85.56	3 x 8	44.46	55.54
3 x 9	0.04	99.96	3 x 9	48.25	51.75
3 x 10	4.98	95.02	3 x 10	40.86	59.14
4 x 5	-9.39	109.39	4 x 5	72.78	27.22
4 x 6	4.34	95.66	4 x 6	-7.47	107.47
4 x 7	21.49	78.52	4 x 7	-4.71	104.71
4 x 8	35.13	64.87	4 x 8	-0.12	100.12
4 x 9	49.19	50.81	4 x 9	6.78	93.22
4 x 10	30.31	69.69	4 x 10	-3.69	103.69
5 x 6	9.32	90.68	5 x 6	6.91	93.09
5 x 7	2.63	97.37	5 x 7	-6.70	106.70
5 x 8	10.63	89.37	5 x 8	-5.07	105.07
5 x 9	-8.25	108.25	5 x 9	2.69	97.32
5 x 10	-13.00	113.00	5 x 10	-7.95	107.95
6 x 7	40.65	59.35	6 x 7	37.38	62.62
6 x 8	19.99	80.01	6 x 8	43.21	56.79
6 x 9	24.97	75.03	6 x 9	23.60	76.40
6 x 10	39.46	60.54	6 x 10	43.37	56.63
7 x 8	42.59	57.41	7 x 8	83.18	16.82
7 x 9	51.89	48.11	7 x 9	72.43	27.57
7 x 10	56.52	43.48	7 x 10	55.48	44.52

8 x 9	67.56	32.44	8 x 9	76.37	23.63
8 x 10	40.69	59.31	8 x 10	68.63	31.37
9 x 10	62.50	37.50	9 x 10	60.65	39.35

S Az: without inoculation of seeds; C Az: with inoculation of seeds, Environments: First Season (1, 00 kg ha⁻¹ N; 2, 30 kg ha⁻¹ N; 3, 60 kg ha⁻¹ N; 4, 90 kg ha⁻¹ N, and 5, 120 kg ha⁻¹ N); Second Season (6, 00 kg ha⁻¹ N; 7, 30 kg ha⁻¹ N; 8, 60 kg ha⁻¹ N; 9, 90 kg ha⁻¹ N, and 10, 120 kg ha⁻¹ N), agricultural years 2019/20 and 2020/21.

The environmental index, for the two processes (S Az and C Az) evaluated in the ten environments are presented in Table 5. Second method of Eberhart & Russel [16], favorable environment is one in which its average is higher than the general average of all environments studied, resulting in a positive index. On the other hand, unfavorable environment is one whose average is lower than the general average, thus being negative index.

In the agricultural year 2019/20, all environments (environments of 1 the 5) without *Azospirillum* (S Az) and with *Azospirillum* (C Az), classified as unfavorable. In the agricultural year 2020/21, all environments (environments 6 to 10), for the processes (S Az) and (C Az), were classified as favorable. Thus, within each process in each of the agricultural years, the doses of N used in coverage (30, 60, 90 and 120 kg from N by ha⁻¹) were not able to cause changes in the classification of environments, so that their classification in favorable and unfavorable occurred mainly due to climatic fluctuations between agricultural years.

In the agricultural year 2020/21, the environments were classified as favorable due, mainly, to the occurrence of more regular rainfall in the grain filling phase (February 2021) (Table 1), when compared with the environments from the agricultural year 2019/20.

The occurrence of lower water availability during the grain filling phase promotes changes in metabolic routes [22], reducing the number of grains per m², the number of ears per m² [23], length of internodes, the storage capacity of sugars in the stem, in addition to resulting in thinner stems, smaller plants and smaller leaf area, which can impair the development of plants [24].

In all environments (1 to 10), whether favorable or unfavorable, seed inoculation (C Az), promoted a greater gain in the productivity of green ears. This fact may have occurred due to diazotrophic bacteria contributing to plant growth, through the supply of nitrogen via symbiotic fixation [5] and to promote an increase in the availability of N from mineral fertilization to plants, through the

incorporation of inorganic nitrogen into complex molecules, resulting from the increase in nitrate reductase enzyme activity [6].

In addition, these bacteria may result in changes in the morphology of the root system, in the number of radícelas and diameter of the roots, probably due to the production of growth-promoting substances (auxins, giberelinas and cytokinins) [25]. Thus, with the use of these bacteria, it would be possible to reduce the use of nitrogen fertilizers, reducing the cost of production and contamination of the environment resulting from the leaching of this element [1].

Chavarria & Melo [26], report that the use of micro-organisms (FBN) in agricultural practices has become increasing, as nitrogen fertilization is an important element in production costs, reduces environmental damage and reduces the greenhouse effect.

Increases in grain yield in corn crop when inoculated with *Azospirillum brasilense* have been observed in several studies [8].

Table 5. Environmental index (Ij) of ten environments, for productivity of green ears (kg ha⁻¹), in processes without inoculation of seeds (S Az) and inoculating the seeds (C Az), according to the Eberhart & Russell [16] method, in the agricultural years 2019/20 and 2020/21, in Palmas – TO.

Environment	S Az		C Az	
	Average	Index (Ij)	Average	Index (Ij)
1	6,140	-2431	8,258	-748
2	6,565	-2006	7,218	-1788
3	7,532	-1039	7,592	-1414
4	6,906	-1926	7,241	-1765
5	8,094	-477	8,422	-584
6	8,966	395	9,274	268
7	9,947	1376	10,136	1130
8	10,152	1581	10,304	1298
9	10,354	1783	10,484	1478
10	11,050	2479	11,130	2124
General Average	8,571	---	9,006	---

Environments: Agricultural Year 2019/20, sowing on 04/12/2019: (Environment 1, 00 kg ha⁻¹ N; Environment 2, 30 kg ha⁻¹ N; Environment 3, 60 kg ha⁻¹ N; Environment 4, 90 kg ha⁻¹ N, and Environment 5, 120 kg ha⁻¹ N).

Agricultural Year 2020/21. Sowing on 10/12/2020: (Environment 6, 00 kg ha⁻¹ N; Environment 7, 30 kg ha⁻¹ N; Environment 8, 60 kg ha⁻¹ N; Environment 9, 90 kg ha⁻¹ N, and Environment 10, 120 kg ha⁻¹ N).

The averages and parameters of adaptability and stability of each cultivar, for each of the processes (S Az and C Az) for the productivity of green ears, by the Method of Eberhart & Russell [16], are represented in Table 6.

All cultivars showed significant regression deviations ($S^2d \neq 0$), in both processes (S Az and C Az), indicating the non-predictability of behavior (instability), i.e., they present variations in the productivity of green ears depending on the environment.

The cultivars BRS-3046 and AG-1051, in the processes S Az and C Az, presented regression coefficient greater than the unit ($\beta_1 > 1$) and average higher than the general average of the group, being considered adapted to favorable environments, that is, where the technological level employed is high.

AG 8088-PRO2 and BRS-2022, in both cases, they presented specific adaptation to unfavorable environments ($\beta_1 < 1$), that is, with low investment in cultivation technology. In this environment, however, only the cultivar AG 8088-PRO2, in the process S Az, averaged higher than the general average and can be classified as well adapted.

The other cultivars presented different classifications when comparing the different inoculation processes (S Az and C Az), indicating their differential behavior when submitted to different seed inoculation processes. Thus, while PR-27D28 presented $\beta_1 < 1$, in the process S Az, and $\beta_1 > 1$, in the process C Az; BM-3061 presented $\beta_1 > 1$, in

the process S Az, and $\beta_1 < 1$, in the process C Az. On the other hand, M-274, presented β_1 not differing from the

unit, in the process S Az, and $\beta_1 < 1$, in the process C Az and Anhembi presented $\beta_1 < 1$, in the process S Az, and β_1 not differing from the unit, in the process C Az.

The Cultivars M-274, in the process S Az, and Anhembi, in the process C Az, presented regression coefficient equal to the unit ($\beta_1 = 1$), that is, they were adapted to favorable and unfavorable environments. These M-274 average dwelled above the overall average. These cultivars are responsive to improving the environment, but require an adequate positioning, because if grown in unfavorable environments, where the technological level is low and face adverse climatic conditions, usually present reduction in productivity [27].

Revolti (2014) it was not possible to generalize the recommendation of the most appropriate form of inoculation since there is a genotype interaction x inoculation form. Therefore, it is necessary to develop cultivars, aiming at the production of green ears, through breeding programs aimed specifically at the processes S Az or C Az.

Already Quadros et al. [20], when evaluating the field agronomic performance of corn hybrids inoculated with *Azospirillum brasilense*, verified the effect of the interaction between hybrids and treatments on productivity, indicating that inoculation may be more efficient in certain hybrids. According to these authors, the benefit of inoculation, depending on the maize genotype, can be observed in different parts of the plant, such as the grains, shoots, or stems.

Table 6. Adaptability Parameters (β_1) and stability (S^2d), for productivity of green ears (kg ha⁻¹), in eight maize cultivars, according to the method of Eberhart & Russell [16], in agricultural years 2019/20 and 2020/21, in Palmas – TO.

Cultivate	S Az			C Az		
	Average	β_1	$s^2 d$	Average	β_1	$s^2 d$
BRS-3046	8,926	1.16**	472407**	9,716	1.33**	287478**
Anhembi	8,431	0.85**	166164**	8,316	1.00ns	431036**
M-274	8,637	1.00ns	228198**	8,890	0.70**	384264**
PR-27D28	8,147	0.79**	116181**	8,568	1.19**	236571**
BRS-2022	8,382	0.91*	293953**	8,814	0.88*	135527**
BM-3061	8,425	1.19**	281028**	9,457	0.79**	332616**
AG-1051	9,000	1.14**	266382**	9,360	1.34**	420721**

AG 8088-PRO2	8,621	0.95*	100670**	8.928	0.78**	683710**
General Average	8,571			9,006		

β_1 = Regression coefficient; S²d= regression deviations; **, *, ns= significant to 1%, 5% and not significant respectively by the test t.

The results of the clusters of the environments, according to the method of Lin [17] (Table 7), for the process C Az, revealed the formation of a single group composed of environments 7 (sowing 10/12/20, 30 kg ha⁻¹ N) and 9 (sowing 10/12/20, 90 kg ha⁻¹ N). In this case, aiming at the optimization of human and financial resources in breeding programs, it would be possible to conduct only the test with the lowest nitrogen fertilization, that is, from 30 kg from N ha⁻¹.

On the other hand, in the absence of *Azospirillum brasilense* (S Az), no group with similar environment was formed (Table 7). Therefore, it can be inferred that the doses of N used (00, 30, 60, 90 and 120 kg ha⁻¹ N) and climatic factors (precipitation and temperature), arising from different agricultural years, promoted significant changes in the environments. In this way, for this feature S Az, it is recommended to conduct a larger number of trials represented by the combination of years with different doses of N in coverage.

Table 7. Grouping of the ten evaluation environments for green ear productivity (kg ha⁻¹), by the method of Lin [17], in agricultural years 2019/20 and 2020/21, in Palmas – TO.

S Az		C Az	
Group	Environments	Group	Environments
I	---	I	7; 9

Environments: Rehearsal First Season (Environment 1, 00 kg ha⁻¹ N; Environments 2, 30 kg ha⁻¹ N; Environments 3, 60 kg ha⁻¹ N; Environments 4, 90 kg ha⁻¹ N, and Environments 5, 120 kg ha⁻¹ N), in 04/12/2019.

Rehearsal Second Season (Environment 6, 00 kg ha⁻¹ N; Environment 7, 30 kg ha⁻¹ N; Environments 8, 60 kg ha⁻¹ N; Environments 9, 90 kg ha⁻¹ N, and Environment 10, 120 kg ha⁻¹ N, in 10/12/2020.

IV. CONCLUSION

There was differential response of cultivars between processes with and without seed inoculation.

Seed inoculation resulted in a higher increase in the productivity of green ears.

BRS-3046 and AG-1051 presented broad adaptation to the environments.

Due to the differential behavior of cultivars, in the presence and absence of *Azospirillum brasilense*, there is a need to conduct specific improvement programs for each process.

REFERENCES

- [1] Revolti, L.T.M. (2014). Interação genótipo vs formas de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho.
- [2] Cantarella, A.P.D.H. (2014). Nitrogênio em milho: oferta harmônica. Revista cultivar grandes culturas, 177, 06-08.
- [3] Dartora, J., Guimarães, V.F., Marini, D., & Sander, G. (2013). Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 17, 1023-1029.
- [4] Souza, S. 2019. Inoculante reduz uso de nitrogênio em milho e aumenta produtividade em mais de 100% Embrapa. disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/45031761/inoculante-reduz-uso-de-nitrogenio-em-milho-e-aumenta-produtividadeem-mais-de-100>. Acesso em: 17/08/2021.
- [5] Moreira, F.M.S, Da Silva, K., Nóbrega, R.S.A., De Carvalho, F. (2010). Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. Comunicata Scientiae, 1(2), 74-74.
- [6] Cassan, F., Perrig, D., Sgroy, V., Masciarelli, O., Penna, C., & Luna, V. (2009). *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). European Journal of soil biology, 45(1), 28-35.
- [7] Bashan, Y., & De-Bashan, L.E. (2010). How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth a critical assessment. Advances in agronomy, 108, 77-136.
- [8] Piovesan, F. (2017). Produção de biomassa de aveia preta inoculada por *Azospirillum brasilense*.
- [9] Araújo, R.M., Araújo, A.S.F.D., Nunes, L.A.P.L., & Figueiredo, M.D.V.B. (2014). Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. Ciência Rural, 44, 1556-1560.
- [10] Carvalho, E.V., Aféri, F.S., Dotto, M.A., Peluzio, J.M., Cancellier, L.L., & dos Santos, W.F. (2013). Adaptabilidade e estabilidade de híbridos de milho em Tocantins. Journal of Biotechnology and Biodiversity, 4(1), 25-31.
- [11] Cruz, C.D. Castoldi, F.L. (1991). Decomposição da interação genótipos x ambientes em partes simples e complexa. Revista Ceres, 38(219), 422-430.

- [12] INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). Dados históricos anuais: 2021. Instituto Nacional de Meteorologia. Available in Accessed on: nov 20, 2021.
- [13] Paiva Júnior, M.D., Von-Pinho, R.G., Von-Pinho, E.V.R., & Resende, S.G.R. (2001). Desempenho de cultivares para a produção de milho verde em diferentes épocas e densidades de sementeira em Lavras-MG. *Ciência e Agrotecnologia*, 25(5), 1235-1247.
- [14] Ritchie, S.W., Hanway, J.J., Benson, G.O. (2003). Como a planta de milho se desenvolve. *Informações agronômicas*, 103, 1-19.
- [15] Magalhães, P.C., Souza, T.D., & Rodrigues, J. (2011). Cultivo do Milho. Sistema de Produção nº. 1.
- [16] Eberhart, S.T., & Russell, W.A. (1966). Stability parameters for comparing varieties 1. *Crop science*, 6(1), 36-40.
- [17] Lin, C.S. (1982). Grouping genotypes by a cluster method directly related to genotype-environment interaction mean square. *Theoretical and Applied Genetics*, 62(3), 277-280.
- [18] Cruz, C.D. (2013). Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 35(3), 271-276.
- [19] Hungria, M. (2011). Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Embrapa Soja-Documents 325, 36. (INFOTECA-E).
- [20] Quadros, P.D.D., Roesch, L.F.W., Silva, P.R.F.D., Vieira, V.M., Roehrs, D.D., & Camargo, F.A.D.O. (2014). Desempenho agrônomico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. *Revista Ceres*, 61, 209-218.
- [21] Gurgel, F.D.L., Ferreira, D., & Soares, A. (2013). O coeficiente de variação como critério de avaliação em experimentos de milho e feijão. Embrapa Amazônia Oriental-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E).
- [22] Naoe, A.M.D.L., Peluzio, J.M., Campos, L.J., & Naoe, L.K. (2020). Co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars subjected to water deficit. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 24(2), 89-94.
- [23] Sousa, R.D., Bastos, E.A., Cardoso, M.J., Ribeiro, V.Q., & Brito, R.D.B. (2015). Desempenho produtivo de genótipos de milho sob déficit hídrico. Embrapa Meio-Norte-Artigo em periódico indexado (ALICE).
- [24] Magalhaes, P.C., & Durães, F.O. (2006). Fisiologia da produção de milho. Embrapa Milho e Sorgo-Circular Técnica (INFOTECA-E).
- [25] Pedrinho, E.A.N. (2009). Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento em milho (*Zea mays*).
- [26] Chavarria, G., Mello, N. (2011). Bactérias do gênero *Azospirillum* e sua relação com gramíneas. *Revista Plantio Direto*, 125.
- [27] Faria, L.A., Peluzio, J.M., dos Santos, W.F., de Souza, C.M., Colombo, G.A., & Afférris, F.S. (2018). Oil and protein content in the grain of soybean cultivars at different sowing seasons. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 13(2), 1-7.