

STELIANE PEREIRA COELHO

*Azospirillum brasilense* NO SISTEMA DE PLANTIO DIRETO ORGÂNICO E  
CONVENCIONAL DE MILHO

Tese apresentada à Universidade Federal  
de Viçosa, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Fitotecnia, para obtenção do título de  
*Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2018

STELIANE PEREIRA COELHO

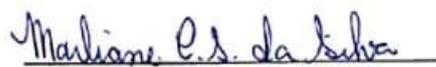
***Azospirillum brasilense* NO SISTEMA DE PLANTIO DIRETO ORGÂNICO E  
CONVENCIONAL DE MILHO**

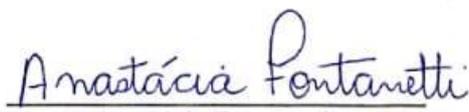
Tese apresentada à Universidade Federal  
de Viçosa, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Fitotecnia, para obtenção do título de  
*Doctor Scientiae*.

APROVADA: 16 de agosto de 2018.

  
Emerson Trogello

  
Paulo Roberto Cecon

  
Marliane de Cássia S. da Silva  
(Coorientadora)

  
Anastácia Fontanetti  
(Coorientadora)

  
João Carlos Cardoso Galvão  
(Orientador)

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

Coelho, Steliane Pereira, 1987-  
C672a *Azospirillum brasilense* no sistema de plantio direto  
2018 orgânico e convencional de milho / Steliane Pereira Coelho. –  
Viçosa, MG, 2018.  
x, 53 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: João Carlos Cardoso Galvão.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Agricultura orgânica. 2. Agricultura. 3. *Azospirillum  
brasilense*. 4. *Zea mays*. 5. Nitrogênio. I. Universidade Federal  
de Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 631.584

## **DEDICO**

à minha mãe Stela Lúcia Pereira Coelho (*in memoriam*),

à minha mãe Maria da Conceição Pereira Coelho,

ao meu pai Heraldo Pereira Coelho.

"O correr da vida embrulha tudo, a vida  
é assim: esquenta e esfria, aperta e daí  
afrouxa, sossega e depois desinquieta. O  
que ela quer da gente é coragem."

Guimarães Rosa

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por iluminar meu caminho, pela força e pelas bênçãos concedidas.

A minha mãe Stela Lúcia (*in memoriam*) pela vida e a mãe Maria da Conceição por acreditar em mim e pelo amor incondicional. Ao meu pai Heraldo. Ao meu irmão Heveraldo pelo apoio e amor. E aos demais familiares que torceram por mim nesta jornada.

A minha segunda família Edgar, Rosana, Ulisses e Sophia pelos momentos de alegria, pelo apoio emocional e estrutural e por estarem comigo em todos os momentos bons e difíceis do doutorado. Muito obrigada!

As minhas amigas Vanessa e Adalgisa pela companhia maravilhosa que fizeram a caminhada mais leve.

Aos meus amigos Jeferson, Emuriela, Beatriz, Édio, Silvane, Tamara e Lamara pela amizade, risadas e apoio nos trabalhos de campo e aos demais colegas de orientação Denize, Eduardo, Maria José, Aaron.

Ao meu orientador João Carlos pela orientação, amizade, carinho e pelos ensinamentos. Por ser mais que um orientador, por ser um amigo ou um “pai”.

As minhas coorientadoras Marliane e Anastácia pelo apoio e orientação.

A prof. Catarina pelo apoio nas análises.

Ao prof. Vicente Wagner Dias Casali pelos conselhos, paciência, sabedoria, ensinamentos, apoio e dedicação despendidos.

A Meire Rodrigues pelo apoio emocional e psicológico.

Aos laboratórios de Associações Micorrízicas, ao Programa Milho e laboratório de Homeopatia.

Aos funcionários da estação experimental de Coimbra-UFV, Jorge (Potoca), Carlos Miranda, Sebastião, Nilson, Beto, Fonseca, Douglas, Pereira e João, pela disponibilidade, ajuda no experimento e pelos almoços e lanches divertidos.

Ao Emerson Trogello pela amizade, atenção e disponibilidade de participar da banca de defesa.

Ao prof. Paulo Cecon pela atenção e auxílio nas análises estatísticas e pela participação na banca de defesa.

Ao Departamento de Fitotecnia

À Universidade Federal de Viçosa, por todo o suporte físico, técnico e intelectual fornecidos durante o doutorado.

À Capes e ao CNPq pela concessão da bolsa.

## BIOGRAFIA

Filha de Stela Lúcia Pereira Coelho e Heraldo Pereira Coelho. Nascida em 10 de julho de 1987, natural de Guidoal-MG. Estudou os primeiros anos de Escola Municipal Pe. Oscar de Oliveira na zona rural e o ensino fundamental e médio na Escola Estadual Mariana de Paiva foi feito na cidade. No início de 2006, ingressa no Instituto Federal Sudeste de Minas – Campus Rio Pomba, cursando Bacharel em Agroecologia. Forma-se Bacharela em Agroecologia em janeiro de 2010. Em 2011 inicia trabalho como bolsista no Projeto de Extensão Ensino e Partilha de Experiências em Plantas Medicinais, Homeopatia e Produção de Alimentos Orgânicos sob orientação do prof. Casali na Universidade Federal de Viçosa. Em 2012 conclui o curso de especialização *lato sensu* em Gestão Empresarial e Ambiental pela UFV. Em agosto de 2012 ingressa no Mestrado do Programa de Pós-graduação em Agroecologia da UFV, finalizando o mesmo em julho de 2014. Já em agosto de 2014 ingressa no Doutorado em Fitotecnia da UFV. Em 17 de agosto de 2018 submete a tese para apreciação da banca avaliadora.

## RESUMO

COELHO, Steliane Pereira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2018. ***Azospirillum brasilense* no sistema de plantio direto orgânico e convencional de milho.** Orientador: João Carlos Cardoso Galvão. Coorientadores: Anastácia Fontanétti e Marliane de Cássia Soares da Silva.

O nitrogênio é um dos nutrientes mais limitante para a agricultura e com elevado custo. O uso de microrganismos na agricultura se coloca como uma possibilidade de fornecimentos de nitrogênio a baixo custo. A suplementação desse nutriente na agricultura pode ser feita pelo uso de bactérias diazotróficas como o *Azospirillum brasilense*, que também é promotora de crescimento das plantas, incluindo o milho. A inoculação com essa bactéria pode, também, melhorar a absorção de diversos nutrientes do solo. Este trabalho estudou o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* em milho nos sistemas de plantio direto orgânico e convencional. O experimento foi realizado em duas safras de milho, instalado no esquema fatorial 6 x 2, sendo seis tipos de sistemas de produção e na presença ou ausência da inoculação com *A. brasilense*. Foram três tipos de sistemas convencionais de plantio direto convencional (PDC1: sem adubação; PDC2: 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia) e três sistemas orgânicos (PDO1: composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>+ feijão-deporco *Canavalia ensiformis*). As folhas e os tecidos internos das raízes estavam colonizadas por *Azospirillum* e a colonização dos tecidos não foi afetada por nenhum dos sistemas de produção. Nos sistemas sob manejo orgânicos a população dessa bactéria na rizosfera foi maior que no convencional e foram encontradas essas bactérias inclusive nas parcelas não inoculadas. Não houve efeito da inoculação no teor de clorofila, mas os maiores valores foram observados nos sistemas orgânicos. A inoculação contribuiu com o aumento da concentração de nitrogênio e fósforo foliar e também com a maior sobrevivência das plantas de milho. Houve resposta da inoculação somente no estágio de florescimento do milho no sistema PDC1 proporcionando aumento de matéria seca e altura de. A inoculação com *A. brasilense* não influencia os teores de nitrogênio, fósforo e potássio foliar nos estádios iniciais de crescimento. A inoculação aumentou a produtividade do milho no sistema convencional sem adubação em 329%. Nos sistemas orgânicos a produtividade é superior aos convencionais. Entretanto, em sistemas de

plantio direto convencional de baixo *input* a inoculação com *A. brasilense* favorece a produtividade do milho.

## ABSTRACT

COELHO, Steliane Pereira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2018. ***Azospirillum brasilense* in the organic and conventional no-tillage system of maize.** Advisor: João Carlos Cardoso Galvão. Co-advisors: Anastácia Fontanétti and Marliane de Cássia Soares da Silva.

Nitrogen has been considered the most limiting nutrient for agriculture and of high cost. Microorganisms in agriculture still is a possibility of low cost nitrogen supply. Nitrogen fertilization in agriculture can be achieved using diazotrophic bacteria such as *Azospirillum brasilense*, which also promote plant growth, including in maize. Inoculation with this bacterium may also improve the absorption of various nutrients from the soil. The aim of this study was to assess the effect of *A. brasilense* inoculation on maize in organic and conventional management no-tillage systems. A field trial was conducted in two maize crops using a 6 x 2 factorial experiment, consisting of six production systems, under of inoculation or not *A. brasilense*. Conventional systems were: conventional no-till without fertilizer (CNT1); conventional no-till with 150 kg ha<sup>-1</sup> of 8-28-16 formulation + 50 kg ha<sup>-1</sup> of urea (CNT2); conventional no-till with 300 kg ha<sup>-1</sup> of 8-28-16 formulation + 100 kg ha<sup>-1</sup> of urea (CNT3), Organic systems were organic no-till with 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> of organic compound (ONT1); organic no-till with 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> of organic compound (ONT2); organic no-till with 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> of jack bean (ONT3). Inner tissue roots and leaves were colonized by *Azospirillum* spp. Tissue colonization was not affected by any production system. In organic systems, the population of these bacteria in the rhizosphere was higher than in the conventional system and they were found even in non-inoculated plots. There was no inoculation effect on chlorophyll content, but the highest values were observed in organic systems. Inoculation contributed to the increase of nitrogen and foliar phosphorous levels and the greater survival rate of maize plants. Inoculation with *A. brasilense* increased maize yield by 329% in the conventional system without fertilizer. Yield was higher in organic than in conventional systems. However, in low-input conventional systems inoculation with *A. brasilense* favors maize yield.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	3

### Artigo I

#### *Azospirillum brasilense* aumenta a produtividade de milho no sistema de plantio direto de baixo *input*

<b>RESUMO</b> .....	7
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	7
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	9
Descrição do local e solo.....	9
Inoculante e delineamento experimental .....	11
Manejo de campo.....	12
Colonização das plantas por <i>A. brasilense</i> .....	13
Amostragem, análise das plantas e colheita .....	13
Análise estatística.....	14
<b>RESULTADOS</b> .....	15
<b>DISCUSSÃO</b> .....	20
<b>CONCLUSÕES</b> .....	22
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	23
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	23

### Artigo II

#### Nutrição e crescimento de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* em sistema de plantio direto convencional e orgânico

<b>RESUMO</b> .....	27
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	28
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	30
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	34
<b>CONCLUSÕES</b> .....	43
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	44
<b>Considerações finais</b> .....	49
<b>Anexo 1-</b> .....	50

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A cultura do milho está entre os principais cereais cultivados mundialmente, sendo utilizado na alimentação humana, animal e fornecendo matérias-primas para a indústria, principalmente em função da quantidade e qualidade das reservas acumuladas nos grãos (Alves et al., 2015). Essa cultura está presente em muitos agroecossistemas produzido em quase todos os continentes, tanto em grandes como em pequenas propriedades, sendo uma das principais culturas da agricultura familiar (Galvão et al., 2014).

O aumento no rendimento do milho baseia-se no melhoramento de plantas, que inclui a aplicação de altas doses de fertilizantes, especialmente o nitrogênio (Tilman et al., 2002). O nitrogênio pode ser considerado o nutriente mais limitante para a agricultura, devido a sua alta exigência por grande parte das culturas e sua reduzida disponibilidade no solo, em função de elevadas perdas por lixiviação e volatilização. Além disso, o nitrogênio é responsável por grande parte dos gastos com as adubações, sendo um dos elementos que mais contribui para a contaminação de águas superficiais com nitratos, acidificação dos solos e das emissões de gases de efeito estufa.

Desta forma, é necessário o estudo de modelos agrícolas menos dependentes do uso de insumos e que reduzam o custo de produção tornando-os mais eficientes. Deve-se desenvolver práticas agrícolas sustentáveis, baseadas em manejos conservacionistas, para obter retornos econômicos para os agricultores, mas com estabilidade na produção de longo prazo e diminuir impacto adverso ao meio ambiente.

Dentre os manejos conservacionistas destaca-se o sistema de plantio direto. Este sistema contribui para minimizar os impactos do cultivo sobre o ambiente, pela redução da erosão do solo, aumento no teor de matéria orgânica no solo, mantendo a fertilidade, melhorando os atributos químicos, físicos e biológicos do solo (Resck et al, 2000; Scopel et al., 2005). Tais benefícios são proporcionados, principalmente, pela deposição constante de material orgânico ao solo. A cobertura do solo nesse sistema é fundamental pois além da proteção contra erosão, nutrientes são liberados para a cultura através da decomposição. E o nitrogênio pode ser disponibilizado especialmente pelas plantas leguminosas (Teixeira et al., 2009).

A disponibilidade de nutrientes pelos resíduos vegetais está associada à relação C/N do material. As leguminosas proporcionam maior aporte de nitrogênio no solo (Perin et al., 2004; Teodoro et al., 2011). Já as gramíneas possuem menor velocidade de

decomposição, sendo a liberação de nitrogênio mais lenta pela maior relação C/N (Torres et al., 2008). No sistema de plantio direto a atividade dos microrganismos benéficos à agricultura, tais como as bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico e os fungos micorrízicos, são favorecidos em relação ao sistema convencional (Peixoto et al. 2006). O sistema de plantio direto possui maior aporte de matéria orgânica, preserva o hábitat dos microrganismos (macroporos) e diminui a oscilação de temperatura (Venzke Filho et al., 2008).

A adoção de sistemas agrícolas conservacionistas que ainda agregam a menor dependência de insumos externos, especialmente, os fertilizantes nitrogenados, contribui para a sustentabilidade ambiental e econômica dos agricultores, como é o caso dos sistemas orgânicos.

No sistema orgânico a nutrição das plantas é feita, principalmente, através de resíduos vegetais e animais como os compostos orgânicos, adubação verde, vermicomposto, biofertilizantes, dentre outros. A qualidade destas matérias varia de acordo com sua origem, podendo ser insuficientes para suprir as necessidades nutricionais das culturas. A cultura do milho é bastante exigente em diversos nutrientes, variando de acordo com o estágio fenológico, sendo o nitrogênio um dos nutrientes mais demandado. Também Muller et al (2017) destacam em sua análise, que o aumento das áreas de produção orgânica terá como provável desafio o suprimento de nitrogênio.

No sistema orgânico há pouca disponibilidade de fontes eficazes de nitrogênio, de baixo custo, e admitidas pelas normas técnicas vigentes (Brasil, 1999; FAO, 2007). O uso de microrganismos pode ser uma alternativa para incorporar nitrogênio nos agroecossistemas de forma eficiente e a baixo custo, com reflexo positivos na produtividade das culturas

O uso de inoculantes de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) que compreendem um grupo de microrganismos que são benéficos para as plantas devido à sua capacidade de colonizar superfícies radiculares, a rizosfera e filosferas, e os tecidos internos das plantas (Davison 1988; Kloepper et al., 1989). Elas estimulam o crescimento das plantas por meio de vários processos como: a fixação biológica de nitrogênio (Huerdo et al. 2008), aumentando a atividade da redutase do nitrato, síntese de hormônios como auxinas, citocininas e as giberelinas e uma variedade de outras moléculas. As BPCP podem promover melhor desenvolvimento das plantas em áreas com limitação de nutrientes.

O *Azospirillum brasilense* é classificado como BPCP, sendo um dos gêneros mais estudado atualmente devido a sua capacidade de colonizar muitas espécies de plantas, especialmente a família das poáceas (gramíneas). A inoculação do *A. brasilense* em culturas economicamente importantes melhorou o crescimento e a produtividade das plantas em muitos ambientes. Sendo os benefícios atribuídos principalmente a capacidade dessa bactéria produzir fitohormônios (Richardson et al., 2009; Gómez et al., 2016). Além disso, o *A. brasilense* fixa o nitrogênio atmosférico (Zhang et al., 1997) em associação com diversas espécies de gramíneas, como por exemplo, o milho.

Vários trabalhos demonstram os benefícios dessa bactéria para no crescimento e produtividade do milho. Em um experimento de campo utilizando inoculantes com combinação de líquido e turfa de *A. brasilense*, houve aumento no rendimento do milho em 27%. Os efeitos da inoculação foram atribuídos aos aumentos gerais na absorção de diversos macro e micronutrientes (Hungria et al., 2010). Ferreira et al., (2013), concluíram que a inoculação de *A. brasilense* mais adição de nitrogênio (100 e 200 kg ha<sup>-1</sup>) aumentou produção de milho em 29%, em comparação a adubação nitrogenada exclusiva. Além disso, em solos com textura arenosa o milho teve melhor desenvolvimento quando inoculado com essa bactéria.

Embora se saiba muito sobre *A. brasilense*, o efeito dessa bactéria promotora do crescimento de plantas no campo em sistemas orgânicos e/ ou de baixo *input* ainda é pouco estudado. Portanto, o objetivo geral do trabalho foi estudar o efeito da inoculação de *A. brasilense* em milho nos sistemas de plantio direto orgânico e convencional.

## **2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALVES, B. M.; CARGNELUTTI FILHO, A.; TOEBE, C. B. M. et al. Divergência genética de milho transgênico em relação à produtividade de grãos e da qualidade nutricional. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 45, n. 5, p. 884-891, 2015.

BRASIL. MINISTRO DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução normativa nº 46, de 6 de outubro de 2011. Estabelece o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal, Brasília, DF, out 2011.

DAVISON, J. Plant beneficial bacteria. *Bio/Technology*, v. 6, p. 282-286, 1988.

FAO. World Health Organization. Guidelines for the production, processing, labelling and marketing of organically produced foods. Rome: FAO-WHO, 2007. 39p. (Codex Alimentarius. CAC/GL, 32).

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.

I. E. Microorganismos del suelo y sustentabilidad de los agroecosistemas. *Rev. Argent. Microbiol.*, 43, p. 1-3, 2011.

GÓMEZ, M. M.; MERCADO, E. C.; ALEXANDRE, G.; PINEDA, E. G. Superoxide anion production in the interaction of wheat roots and rhizobacteria *Azospirillum brasilense* Sp245. *Plant and Soil*, v. 400, p. 55-65, 2016.

GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V.; TROGELLO, E.; FRITSCHÉ-NETO, R. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 61, p. 819-828, 2014.

HAYAT, R.; AHMED, I.; SHEIRDIL, R. A. An overview of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture. In: ASHRAF, M.; ÖZTÜRK, M.; AHMAD, M. S. A.; AKSOY, A. Crop production for agricultural improvement, Springer, Dordrecht, The Netherlands, p. 557-579, 2012.

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.

HUERGO, L. F.; MONTEIRO, R. A.; BONATTO, A. C.; RIGO, L. U.; STEFFENS, M. B. R.; CRUZ, L. M.; CHUBATSU, L. S.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Regulation

of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina*. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, 2008. p.17-35.

KLOEPPER, J.W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R.M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology*. v.7, p.39-43, 1989.

MULLER, A.; SCHADER, C.; SCIALABBA, N. E.; BRÜGGEMANN, J.; ISENSEE, A.; ERB, K.; SMITH, P.; KLOCKE, P.; LEIBER, F.; STOLZE, M.; NIGGLI, U. Strategies for feeding the world more sustainably with organic agriculture. *Nature communications*, v. 8, 2010.

Peixoto, R. S.; Coutinho, H. L. C.; Madari, B.; Machado, P. L. O. A.; Rumjanek, N. G.; Van Elsas, J. D.; Seldin, L.; Rosado, A. S. Soil aggregation and bacterial community structure as affected by tillage and cover cropping in the Brazilian Cerrados. *Soil and Tillage Research*, v. 90, p. 16-28, 2006.

PERIN, A.; SANTOS, R.H.S.; URQUIAGA, S.; GUERRA, J.G.M.; CECON, P.R. Produção de fitomassa, acúmulo de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio por adubos verdes em cultivo isolado e consorciado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 39, p. 35-40, 2004.

RESCK, D. V. S.; VASCONCELLOS C. A.; VILELA, L.; MACEDO, M. C. M. Impact of conversion of Brazilian cerrados to cropland and pastureland on soil carbon pool and dynamics. In: LAL, J. M. R.; KIMBLE, J. M.; STEWART, B. A. (Ed.). *Global climatic change and tropical ecosystems*. New York: Lewis Publishers, p. 169-196, 2000.

RICHARDSON, A. E, BAREA, J. M, MCNEILL, A. M, PRIGENT-COMBARET, C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil*, v. 321, p. 305-339, 2009.

TEIXEIRA, C.M.; CARVALHO, G.J.; ANDRADE, M.J.B.; SILVA, C.A.; PEREIRA, J.M. Decomposição e liberação de nutrientes das palhadas de milho e milho +

crotalária no plantio direto do feijoeiro. *Acta Scientiarum: Agronomy*, v. 31, p. 647-653, 2009.

TEODORO, R.B.; OLIVEIRA, F.L.; SILVA, D.M.N.; FÁVERO, C.; QUARESMA, M.A.L. Aspectos agronômicos de leguminosas para adubação verde no cerrado do alto vale do Jequitinhonha. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 35, p. 635-643, 2011.

TILMAN, D.; CASSMAN, K. G.; MATSON, P. A.; NAYLOR, R.; POLASKY, S. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, v. 418, p. 671-677, 2002.

SCOPEL, E. DOUZET, L.; SILVA, F. A. M.; CARDOSO, A.; MOREIRA, J. A. A.; FINDELING, A.; BERNOUX, M. Impactos do sistema de plantio direto com cobertura vegetal (SPDCV) sobre a dinâmica da água, do nitrogênio mineral e do carbono do solo do cerrado brasileiro. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, v. 22, n. 01, p. 169-183, 2005.

VERMA, J.P.; YADAV, J.; TIWARI, K.N.; LAVAKUSH, V. SINGH. Impact of plant growth promoting rhizobacteria on crop production. *International Journal Agriculture Research*, v. 5, p. 954-983, 2009.

VENZKE FILHO, S. P.; FEIGL, B. J.; PICCOLO, M. C.; SIQUEIRA NETO, M.; CERRI, C. C. Biomassa microbiana do solo em sistema de plantio direto na região de campos gerais - Tibagi, PR. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, v. 32, p. 599-610, 2008.

ZHANG, Y; BURRIS, R. H.; LUDDEN, P. W.; ROBERTS, G. P. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. *FEMS Microbiology Letters*, v. 152, p. 195-204, 1997.

## Artigo I

### *Azospirillum brasilense* aumenta a produtividade de milho no sistema de plantio direto de baixo *input*

#### RESUMO

A suplementação do nitrogênio na agricultura pode ser feita pelo uso de bactérias diazotróficas como o *Azospirillum brasilense*, que também é promotora de crescimento das plantas, incluindo o milho. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação de *A. brasilense* na produtividade do milho e identificar o melhor sistema de cultivo para uso de inoculantes à base de *A. brasilense*. O experimento foi realizado em duas safras de milho, instalado no esquema fatorial 6 x 2, com 4 repetições, sendo seis tipos de sistemas de produção e na presença ou ausência da inoculação com *A. brasilense*. Foram três tipos de sistemas convencionais de plantio direto (PDC1: sem adubação; PDC2: 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia) e três tipos de sistemas orgânicos (PDO1: composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>+ feijão-de-porco, *Canavalia ensiformis* DC). As folhas e os tecidos internos das raízes estavam colonizadas por *Azospirillum* e a colonização dos tecidos não foram afetadas por nenhum dos sistemas de produção. Nos sistemas orgânicos a população dessas bactérias na rizosfera foi maior que no convencional e foram encontradas essas bactérias inclusive nas parcelas não inoculadas. Não houve efeito da inoculação no teor de clorofila, mas os maiores valores foram observados nos sistemas orgânicos. A inoculação contribuiu com o aumento da concentração de nitrogênio e fósforo foliar e também com a maior sobrevivência das plantas de milho. A inoculação de *A. brasilense* aumentou a produtividade do milho no sistema convencional sem adubação em 329%. Em sistemas orgânicos a produtividade é maior que em convencional. Entretanto, em sistemas convencionais de baixo *input* a inoculação com *A. brasilense* favorece a produtividade do milho.

Palavras chave: Agricultura orgânica; agricultura convencional, nitrogênio; bactéria diazotrófica; *Zea mays*

#### INTRODUÇÃO

A agricultura de baixo *input* e/ou a produção orgânica tem como um dos principais entraves, a pouca disponibilidade de fontes eficazes de nitrogênio, de baixo custo, e admitidas pelas normas técnicas vigentes, quando certificadas. Muller et al. (2017), destacam em uma análise, que o aumento das áreas de produção orgânica terá como provável desafio o suprimento de nitrogênio. Além disso, em zonas marginais de

agricultura, o que limita o uso de fertilizantes nitrogenados é a falta de recursos financeiros para investimento ou a falta de investimento pelo elevado risco de perdas de produtividade em função de risco climático. Nesses sistemas de baixo *input*, a maioria dos nutrientes se tornam disponíveis a partir da mineralização da matéria orgânica do solo e do uso de leguminosas (Fabaceae) (Gijssman et al. 2002).

O nitrogênio é um dos nutrientes mais limitantes para a agricultura (Dobbelaere et al. 2002) e, na agricultura convencional a adubação nitrogenada representa um dos maiores custos de produção das culturas não leguminosas. Para a cultura do milho o nitrogênio está entre os nutrientes mais exigidos (Coelho, 2006).

Assim, o uso de inoculantes de Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (BPCP) se coloca como uma possibilidade de fornecimentos de nitrogênio a baixo custo. Estas bactérias compõe um grupo de microrganismos que são benéficos as plantas. Elas estimulam o crescimento por meio de processos como a fixação biológica de nitrogênio (Steenhoudt and Vanderleyden 2000; Fibach-paldi et al. 2012), solubilização de fósforo, a síntese de hormônios como auxinas, citocininas e giberelinas.

O *Azospirillum brasilense* é uma BPCP que fixa nitrogênio em associação com diversas espécies de poaceas, a exemplo do milho. A associação é endofítica facultativa, colonizando a rizosfera, o interior das raízes, caules e folhas. O uso de bactérias fixadoras de nitrogênio representa uma ferramenta promissora na redução da necessidade de fertilizantes nitrogenados, tornando-se uma alternativa para o desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável.

No entanto, a literatura disponível sobre a inoculação de *A. brasilense* em sistemas orgânicos ou de baixo *input* ainda é escassa. A maioria dos trabalhos são realizados no sistema convencional em associação com adubação mineral (Martins, et al. 2017; Fukami et al. 2016). Os resultados têm destacado que a inoculação de milho com bactérias diazotróficas pode aumentar os rendimentos da cultura. Porém, resultados ainda são contraditórios, com aumentos de até 30% na produtividade do milho e trigo (Hungria et al. 2010) ou a ausência de efeitos (Vasconcelos et al. 2016).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação de *A. brasilense* na produtividade do milho e identificar o promissor sistema de cultivo para uso de inoculantes à base de *A. brasilense*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Descrição do local e solo

O experimento foi realizado nos anos agrícolas 2015/16 e 2016/17, na estação experimental de Coimbra-MG (latitude de 20°45'S, longitude de 45°51'W, e altitude de 650 m), pertencente à Universidade Federal de Viçosa (UFV), situada no município de Coimbra, na Zona da Mata de Minas Gerais. O solo da área experimental é classificado como Argissolo Vermelho Amarelo (Embrapa, 2013). Os dados climáticos (Figura 1) referentes ao período de experimentação foram adquiridos na Estação Meteorológica da UFV. Devido às adubações recebidas desde 1984 as características químicas do solo entre os sistemas de produção são distintas e apresentadas na Tabela 1.

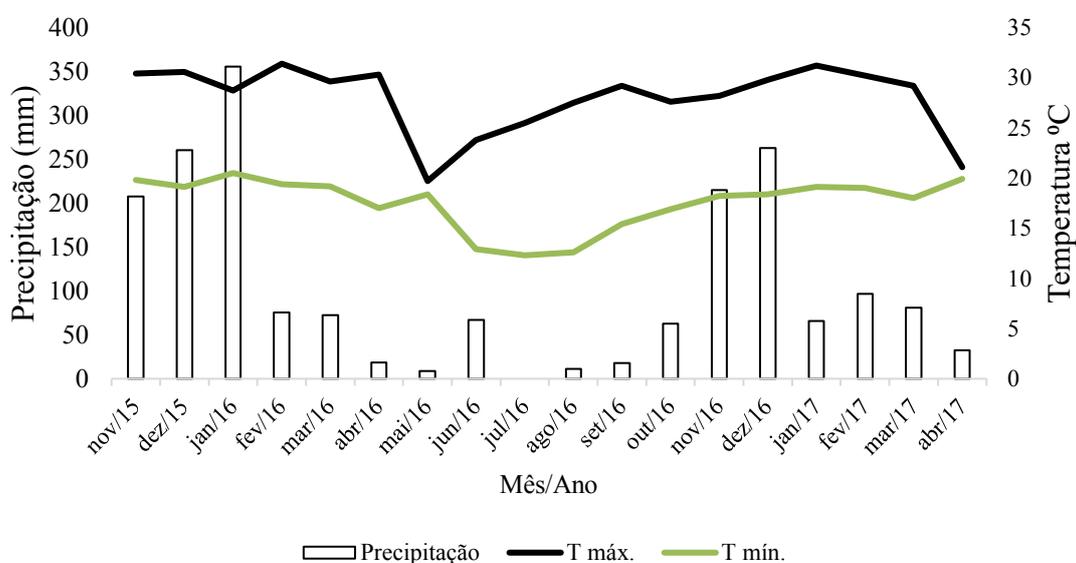


Figura 1- Precipitação acumulada e temperatura média durante a condução do experimento de milho nas safras 2015/16 e 2016/17.

Tabela 1- Resultado da análise química do solo: pH, fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), matéria orgânica (MO), Carbono orgânico (CO), acidez potencial (H+Al), soma de bases (SB), CTC efetiva (CTC(t)), CTC pH7 (CTC(T)), alumínio trocável (Al<sup>3+</sup>) e porcentagem de saturação de bases (V).

Sistema <sup>1</sup>	pH	P	K	Ca	Mg	MO	CO	H+Al	SB	CTC(t)	CTC (T)	Al <sup>3+</sup>	V
		-----mg/dm <sup>3</sup> -----			dag kg <sup>-1</sup>		-----cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> -----				%		
PDC1	5,8	1,60	299	2,14	1,14	3,29	1,91	4,13	4,05	4,05	8,17	0,0	45,33
PDC2	5,3	4,97	216	1,76	0,75	3,60	2,09	5,16	3,09	3,16	8,22	0,0	37,00
PDC3	5,2	11,18	245	1,66	0,68	3,26	1,89	5,78	2,97	3,12	8,74	0,0	33,75
PDO1	6,5	25,43	515	4,10	1,85	4,10	2,38	3,02	7,27	7,27	10,28	0,0	71,0
PDO2	6,3	23,42	450	4,07	1,61	4,12	2,39	2,96	6,83	6,83	9,80	0,0	69,75
PDO3	6,6	33,22	497	4,11	1,69	4,10	2,38	2,89	7,07	7,07	9,84	0,0	71,50

<sup>1</sup> PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> + feijão-de-porco.

CO foi estimado por: M.O. = 1,724 x C.O.

As áreas utilizadas possuem plantio em sistemas convencional e orgânico desde 1984. Inicialmente, a área foi utilizada para testar se o composto orgânico, na dose de 40 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>, aplicado continuamente na cultura do milho modificava os teores de nutrientes foliares, influenciava as características químicas e físicas do solo e aumenta o rendimento da cultura (Maia e Cantarutti, 2004).

Até 2003 o manejo de toda a área era feito de forma convencional, com aração e gradagem, e a adubação realizada no sulco de plantio. Os tratamentos instalados comparavam o efeito da adubação orgânica e da adubação mineral na cultura do milho. As parcelas experimentais, orgânico e convencional, mantiveram-se fixas ao longo dos anos.

Após esse período, toda a área foi manejada em sistema de plantio direto, utilizando como planta de cobertura a aveia-preta (*Avena strigosa* L.), e o composto orgânico (40 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>) passou a ser aplicado ao lado da linha de semeadura, após a emergência do milho, na superfície do solo.

Nas safras de 2015/16 e 2016/17, quando foi realizado o presente trabalho, o experimento manteve o sistema de plantio direto, orgânico e convencional, sendo avaliado o efeito da inoculação de bactéria *A. brasilense*.

### **Inoculante e delineamento experimental**

A inoculação foi feita nas sementes de milho, com inoculante comercial líquido, AZOTOTAL<sup>®</sup>, que contém a bactéria *Azospirillum brasilense*, estirpes Abv5 e Abv6, na concentração mínima de 2x10<sup>8</sup> células viáveis mL<sup>-1</sup>, segundo informações do fabricante. Foi utilizada a dose de 100 mL ha<sup>-1</sup>, recomendada para cultura do milho. A inoculação na safra 2015/16 foi realizada com inoculante líquido e na safra 2016/17 com inoculante turfoso. A substituição do inoculante líquido pelo turfoso ocorreu pelo fato de o inoculante turfoso permitir um melhor diagnóstico sobre a uniformidade da cobertura das sementes pelo inoculante. A inoculação das sementes foi realizada na sombra no período da manhã, com auxílio de solução açucarada 10%, e as sementes permaneceram secando a sombra por 30 min.

O experimento foi instalado em esquema fatorial 6 x 2, sendo seis tipos de sistemas de plantio direto, inoculados ou não com *A. brasilense*. O delineamento foi o de blocos casualizados, com quatro repetições, totalizando 48 parcelas. Os sistemas de produção foram: Plantio direto convencional (PDC) sem adubação; PDC com adubação mineral na

dose de 150 Kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 Kg ha<sup>-1</sup> de ureia em cobertura; PDC com adubação mineral na dose de 300 Kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 Kg ha<sup>-1</sup> de ureia em cobertura; plantio direto orgânico (PDO) com 40 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> de composto orgânico; PDO com 20 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> composto orgânico e PDO adubação com 40 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> de composto + consórcio com feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* DC.). A parcela experimental foi formada por 10 linhas de milho com oito metros de comprimento, espaçadas entre si por 0,80 m (64 m<sup>2</sup>), sendo avaliadas as quatro linhas centrais de milho (19,2 m<sup>2</sup>).

### **Manejo de campo**

A aveia-preta foi a cultura que antecedeu o plantio direto do milho em ambas as safras. A aveia foi semeada a lanço na densidade de 80 Kg ha<sup>-1</sup> de sementes que foram incorporadas ao solo com a gradagem leve, na profundidade aproximada de 2 a 3 cm, sem adubação. No florescimento, a aveia foi cortada com roçadeira costal e a palhada ficou exposta ao sol para dessecação natural.

A semeadura da variedade de milho AL Bandeirante foi realizada com matracas, mantendo a população de 50.000 plantas ha<sup>-1</sup>, após desbaste. Nas parcelas com feijão-de-porco, a fabaceae foi semeada manualmente, na densidade de 5 plantas por metro, simultaneamente ao milho, na mesma linha de plantio. Nos sistemas de plantio direto orgânico o composto foi aplicado em superfície ao lado da linha de semeadura após a emergência do milho. No sistema convencional a adubação de plantio foi realizada no sulco e a cobertura com ureia quando o milho estava com quatro folhas expandidas.

Os resultados da análise química do composto com base em massa de matéria seca, determinados de acordo com a metodologia descrita por Kiehl (1985), foram: 10,61% de carbono orgânico; 1,10 % de N total; 0,38% de P; 1,20% de K; 0,94% de Ca; 0,42% de Mg; 0,53% de S; 0,158g de Zn; 37,686g de Fe; 0,239g de Mn; 0,068g de Cu; 0,0131g de B; 0,18% de Na e pH 8,83.

Nas parcelas em PDC, o controle das plantas daninhas foi realizado com a mistura dos herbicidas atrazine e nicossulfuron (1,50 e 0,030 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente) aos 20 dias após a emergência (DAE) do milho. Nas parcelas em PDO o controle foi feito com ceifadeira motorizada, nas entrelinhas de plantio, nos estádios de duas e quatro folhas expandidas do milho.

### **Colonização das plantas por *A. brasilense***

A contagem da população de *Azospirillum* spp foi realizada na safra 2016/17. A primeira coleta de solo foi realizada 30 dias antes do plantio, para avaliação da população inicial. A coleta das amostras de solo foi feita em cinco pontos aleatórios em cada parcela, na profundidade de 0-10 cm. Para coleta foi utilizado canos de PVC, que foram lavados em água corrente com detergente e desinfestado com hipoclorito de sódio 1% e álcool 70%.

No estádio R1 (emissão da espigueta) foram coletadas, de dez plantas por tratamento, a primeira folha, abaixo e posta a espiga. Foi retirado uma amostra composta de 1g do terço médio das folhas. Nesse mesmo estágio foram coletadas também amostras de sistema radicular e solo rizosférico de duas plantas por tratamento. As plantas de milho foram retiradas inteiras com parte aérea e sistema radicular com auxílio de um enxadão, evitando separar as raízes do solo. As amostras foram levadas para laboratório onde foi separado a raízes finas do milho do solo rizosférico. Foi considerado como solo rizosférico aquele mais aderido as raízes. Foi retirada uma amostra de 1 g de raízes finas. E para o solo rizosférico foi utilizada uma amostra de 10 g.

A contagem de *Azospirillum* spp foi feita por diluição seriada, após a maceração, e a contagem realizada nas diluições  $10^{-2}$  para raízes e folhas e  $10^{-3}$  para solo rizosférico. Para tanto, os tecidos de folhas e raízes após a lavagem em água de torneira, foram imersos em álcool 70% por 10 s, hipoclorito de sódio 1% por 30 s, seguidas de duas lavagens em água destilada autoclavada. O material vegetal foi triturado utilizando-se o POLITRON<sup>®</sup>. Foi utilizado o meio de cultura NFb semi seletivo para *Azospirillum* ssp (Baldani e Dobereiner 1980) e a contagem foi feita pelo método *SpiralPlate* (Gilchrist et al. 1973). As placas foram armazenadas em câmara tipo BOD a 28 °C e a contagem realizada em lupa após 5 dias.

### **Amostragem, análise das plantas e colheita**

Nas safras 2015/16 e 2016/17 foram feitas as avaliações de crescimento das plantas de milho, nos estádios quatro folhas expandidas (V4), doze folhas expandidas (V12) e emissão de espiguetas (R1): altura de planta, diâmetro na base do colmo, matéria seca aérea. O índice SPAD (Soil Plant Analysis Development, Minolta 502 DL PLUS) foi também avaliado nesses mesmos estádios fenológicos. Já o teor de nitrogênio foliar foi avaliado no estádio R1. A altura das plantas de milho foi determinada com auxílio de uma

trena, compreendido entre a região da superfície do solo até o final da última folha completamente desenvolvida. Para determinar o diâmetro do colmo foi considerado o diâmetro do início do segundo internódio, a partir da base da planta, utilizando paquímetro digital.

O índice de clorofila (SPAD) foi avaliado na última folha completamente expandida do milho, nos estádios V4 e V12, enquanto no estágio R1 a leitura foi feita na primeira folha abaixo e oposta à espiga. As leituras foram realizadas em quatro plantas por parcela, em três pontos situados no terço médio da folha, a partir da base, e a 2 cm de uma das margens (Argenta et al. 2001).

O teor de nitrogênio foliar foi avaliado na primeira folha oposta e abaixo da primeira espiga no estágio R1, sendo coletadas 10 folhas por parcela. As amostras foram lavadas em água corrente e destilada, posteriormente levadas à estufa de ventilação forçada, por 72 h a 70 °C, para obtenção da matéria seca. O material seco foi moído em moinho de facas tipo Willey / Star FT80 e submetidos à análise química para a determinação do Nitrogênio (N) total pelo método de Kjeldahl. Enquanto que para fósforo e potássio foi utilizada a digestão nitro-perclórica e leitura por espectrofotometria com azul-de-molibidênio e fotometria de chama, respectivamente.

Para avaliar os componentes de produtividade do milho foram quantificadas as variáveis: estande final (incluindo o número de plantas quebradas e acamadas no momento da colheita dos grãos); altura de inserção da primeira espiga (medida do nível do solo até a inserção da primeira espiga); prolificidade (número total de espigas dividido pelo número de plantas por parcelas); número de fileiras por espiga; número de grãos por fileiras; massa de mil grãos e produtividade.

A colheita foi realizada manualmente. Foram colhidas todas as espigas com palha na área útil da parcela. Posteriormente, as mesmas foram debulhadas em debulhador elétrico estacionário. A massa e produtividade de grãos foi corrigida para 13% de umidade.

### **Análise estatística**

O experimento foi repetido em duas safras. Para análise de variância foi utilizada a média das safras 2015/16 e 2016/17, com exceção dos dados da contagem de *Azospirillum* em solo, solo rizosférico, folhas, que foram coletados somente na safra 2016/17. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a

5% de probabilidade. Para os dados de contagem foi utilizada a transformação  $\log(x)$ . Quando houve interação, esta foi desmembrada, caso contrário, apenas os efeitos individuais foram testados. Os dados de crescimento e produtividade foram também submetidos à análise de correlação de Pearson. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SAEG (Saeg, 2007).

## RESULTADOS

A população de *Azospirillum* no solo antes da implantação do experimento era alta sendo praticamente a mesma que após o plantio (Tabela 2). Verifica-se que não houve efeito da inoculação sobre a contagem de bactérias no solo rizosférico, na folha e na raiz. A colonização foliar e interna das raízes não foram afetadas por nenhum dos sistemas de produção. O solo rizosférico apresentou maior população de bactérias nos sistemas orgânicos que nos convencionais.

Tabela 2- Valores médios dos dados de contagem unidades formadoras de colônias de *Azospirillum* spp. em solo antes do plantio e no solo rizosférico, folhas e raízes de milho na safra 2016.

Sistemas <sup>1</sup>	Solo antes do plantio	Solo Rizosférico	UFC g <sup>-1</sup>	
			Folha	Raiz
PDC1	1,99 x 10 <sup>7</sup> a	3,00 x 10 <sup>7</sup> bc	1,76 x 10 <sup>5</sup> a	0,99 x 10 <sup>5</sup> a
PDC2	1,14 x 10 <sup>7</sup> a	2,90 x 10 <sup>7</sup> bc	2,36 x 10 <sup>5</sup> a	1,50 x 10 <sup>5</sup> a
PDC3	0,93 x 10 <sup>7</sup> a	2,00 x 10 <sup>7</sup> c	1,06 x 10 <sup>5</sup> a	1,66 x 10 <sup>5</sup> a
PDO1	1,62 x 10 <sup>7</sup> a	5,88 x 10 <sup>7</sup> a	2,02 x 10 <sup>5</sup> a	2,63 x 10 <sup>5</sup> a
PDO2	1,35 x 10 <sup>7</sup> a	4,74 x 10 <sup>7</sup> ab	1,97 x 10 <sup>5</sup> a	1,26 x 10 <sup>5</sup> a
PDO3	1,98 x 10 <sup>7</sup> a	7,18 x 10 <sup>7</sup> a	0,89 x 10 <sup>5</sup> a	1,39 x 10 <sup>5</sup> a
CV (%)	3,21	2,81	9,20	16,60

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> + feijão-de-porco. Médias seguidas de letras iguais na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%. Dados transformados por  $\log(x)$

A concentração de nitrogênio e de fósforo nas folhas de milho foi aumentada pela inoculação no sistema PDC1 ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3). Os sistemas que receberam algum tipo de adubação mineral ou orgânica não tiveram efeito da inoculação no acúmulo de

nitrogênio na folha do milho. Os sistemas e a inoculação não afetaram o teor de potássio (Tabela 3).

O índice Spad não foi influenciado pela inoculação. Mas no sistema PDO3 a índice Spad foi aumentado nas folhas de milho ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3).

Tabela 3- Valores médios referente ao teor de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) foliar realizado no estágio de florescimento do milho e Índice Spad nos estádios fenológicos V4, V12 e R1, nas safras 2015/16 e 2016/17, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*.

Sistemas <sup>1</sup>	N (g Kg <sup>-1</sup> )		P (g Kg <sup>-1</sup> )		K(g Kg <sup>-1</sup> )	Índice Spad		
	NI	I	NI	I		V4	V12	R1
PDC1	10,09dB	14,08bcA	2,75dB	4,17bA	19,84a	32b	33e	36d
PDC2	12,98cA	12,04cA	2,90cdA	3,06cA	19,65a	34b	36de	34cd
PDC3	13,72cA	13,93bcA	3,68bcA	3,18cA	19,83a	37a	38cd	36bcd
PDO1	17,19abA	15,85bA	4,94aA	4,53abA	19,86a	37a	43ab	40ab
PDO2	15,21bcA	15,65bA	4,54abA	5,05aA	18,86a	34b	40bc	39bc
PDO3	19,71aA	19,29aA	4,43abA	4,14bA	19,83a	38a	45a	44a
CV (%)	8,64		10,37		5,58	5,30	6,48	7,89

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> + feijão-de-porco. NI: não inoculado; I: inoculado. Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas e minúsculas na coluna para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

A inoculação proporcionou maior altura de plantas e diâmetros de colmos no sistema PDC1 e maior diâmetro de colmo no sistema PDO3 ( $p < 0,05$ , Tabelas 4 e 5). Os sistemas orgânicos proporcionaram maior ganho de massa seca nas plantas de milho independente da inoculação (Tabela 5).

Tabela 4- Valores médios dos dados de altura de plantas nos estádios fenológicos V4, V12 e R1 e altura da primeira espiga nas safras 2015/16 e 2016/17, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*.

Sistemas <sup>1</sup>	Altura de planta (cm)					Altura de espiga (cm)
	V4		V12	R1		
	NI	I	---	NI	I	
PDC1	10 dB	15 bA	42 d	105 cB	143 cA	0,47d
PDC2	13 cdA	13 bA	50 cd	139 bA	143 cA	0,59cd
PDC3	15 bcA	14 bA	65 bcd	152 bA	158 bcA	0,67bc
PDO1	18 abA	16 abA	88 ab	182 aA	176 abA	0,88a
PDO2	15 bcA	15 bA	69 bc	166 abA	162 abcA	0,79ab
PDO3	20 aA	20 aA	100 a	188 aA	187 aA	0,94a
CV (%)	12,20		23,17	8,44		13,90

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> + feijão-de-porco. Não-inoculado (NI); Inoculado (I). Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas e minúsculas na coluna para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Tabela 5- Valores médios dos dados de diâmetro de colmo nos estádios fenológicos V4, V12 e R1 e massa seca do milho nos estádios fenológicos V4 e V12 nas safras 2015/16 e 2016/17, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*.

Sistema <sup>1</sup>	Diâmetro (mm)				Massa seca (g pl <sup>-1</sup> )	
	V4	V12	R1		V4	V12
			NI	I		
PDC1	8,08c	20,12a	13,07cB	16,15bA	2,98a	27,58b
PDC2	8,07c	22,05a	15,97bcA	15,87bA	2,83a	33,27b
PDC3	8,70bc	20,67a	16,57abA	17,15bA	2,75a	42,49ab
PDO1	10,88a	21,34a	19,25aA	18,63abA	5,36a	54,65a
PDO2	9,02bc	19,87a	19,32aA	17,22bB	3,19a	44,12ab
PDO3	11,88a	21,39a	18,88abB	21,07aA	4,85a	60,20a
CV (%)	14,69	12,32	7,85		53,52	31,24

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> + feijão-de-porco. Não-inoculado (NI); Inoculado (I). Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas e minúsculas na coluna para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

A inoculação proporcionou aumento de produtividade do milho no sistema PDC1, assim como proporcionou aumento nas características número de grãos por fileira, massa de mil grãos e estande neste sistema de produção (Tabelas 6 e 7). Novamente, os sistemas orgânicos apresentaram maiores médias para os componentes de produção (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6- Valores médios dos dados de número de fileiras, número de grãos por fileira e massa de mil grãos nas safras 2015/16 e 2016/17, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*.

Sistemas <sup>1</sup>	Número de fileiras	Grãos por Fileira		Massa de grãos (g)	
		NI	I	NI	I
PDC1	14 b	20 cB	29 abA	245 dB	274 aA
PDC2	14 ab	28 bA	27 bA	263 cdA	261 aA
PDC3	14 ab	30 abA	28 abA	281 bcA	265 aB
PDO1	14 ab	32 aA	29 abA	293 abA	277 aB
PDO2	14 ab	30 abA	30 abA	287 abA	276 aA
PDO3	15 a	31 abA	32 aA	307 aA	303 bA
CV (%)	4,92	7,55		3,75	

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> + feijão-de-porco. Não-inoculado (NI); Inoculado (I). Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas e minúsculas na coluna para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

A produtividade do milho em PDC1 atingiu média de 4079 Kg ha<sup>-1</sup> quando inoculada com *A. brasilense*, um aumento em 2839 Kg ha<sup>-1</sup>, equivalente a 329% quando comparado com o não inoculado nesse mesmo sistema (Tabela 7).

A inoculação não teve efeito nos sistemas orgânicos. Porém, as médias de produtividade foram maiores nesses sistemas, com destaque para o PDO3, adubação orgânica e feijão de porco, alcançando média de 6754 kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 7).

Tabela 7- Valores médios dos dados referente a prolificidade (prol), estande final e produtividade de milho nas safras 2015/16 e 2016/17, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*.

Sistemas <sup>1</sup>	Prol	Estande (plantas/ha)		Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> )	
		NI	I	NI	I
PDC1	0,83 b	44075bB	51562 aA	1240 eB	4079 bcA
PDC2	0,96 ab	52408 aA	49479 aA	2977 deA	3077 cA
PDC3	0,95 ab	54231 aA	50651 aA	3896 cdA	3748 bcA
PDO1	0,97 ab	52343 aA	47265 aA	5889 abA	5096 abA
PDO2	0,96 ab	50065 abA	51822 aA	4754 bcA	4948 abA
PDO3	1,09 a	52929 aA	50911 aA	6754 aA	6204 aA
CV (%)	13,67	7,40		18,73	

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> + feijão-de-porco. Não-inoculado (NI); Inoculado (I). Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas e minúsculas na coluna para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

É possível observar que quase todas as características avaliadas estiveram correlacionadas com a produtividade (Tabela 8). Sendo que as variáveis altura de planta (0,93), concentração de nitrogênio foliar (0,88), índice SPAD em R1 (0,93) e altura de plantas em R1 (0,91) foram as características que mais influenciaram a produtividade.

Tabela 8- Estimativa dos coeficientes de correlação linear simples entre as características de milho em diferentes sistemas de plantio direto e milho em função da inoculação com *A. brasilense* nas safras 2015/16 e 2016/17.

	Produtividade	Massa de grãos	SPAD (R1)	Conc. N
Produtividade	1	0,887**	0,871**	0,877**
Massa de grãos	0,887**	1	0,817**	0,844**
SPAD (R1)	0,871**	0,817**	1	0,820**
Conc. N	0,877**	0,845**	0,820**	1
Altura (V4)	0,903**	0,839**	0,778**	0,853**
Altura (V12)	0,857**	0,805**	0,766**	0,785**
Altura (R1)	0,930**	0,833**	0,841**	0,813**
Altura de espiga	0,919**	0,834**	0,811**	0,814**
Diâmetro (V4)	0,809**	0,764**	0,680**	0,766**

Diâmetro (V12)	-0,095 <sup>ns</sup>	0,023 <sup>ns</sup>	-0,033 <sup>ns</sup>	-0,057 <sup>**</sup>
Diâmetro (R1)	0,866 <sup>**</sup>	0,817 <sup>**</sup>	0,780 <sup>**</sup>	0,799 <sup>**</sup>
Massa seca (V4)	0,581 <sup>**</sup>	0,516 <sup>**</sup>	0,417 <sup>**</sup>	0,460 <sup>**</sup>
Massa seca (V12)	0,731 <sup>**</sup>	0,692 <sup>**</sup>	0,729 <sup>**</sup>	0,658 <sup>**</sup>
SPAD (V4)	0,626 <sup>**</sup>	0,604 <sup>**</sup>	0,552 <sup>**</sup>	0,575 <sup>**</sup>
SPAD (V12)	0,911 <sup>**</sup>	0,864 <sup>**</sup>	0,855 <sup>**</sup>	0,865 <sup>**</sup>
Prolifividade	0,725 <sup>**</sup>	0,699 <sup>**</sup>	0,663 <sup>**</sup>	0,511 <sup>**</sup>
Estande	0,478 <sup>**</sup>	0,393 <sup>**</sup>	0,429 <sup>**</sup>	0,255 <sup>**</sup>
Número de fileira	0,643 <sup>**</sup>	0,640 <sup>**</sup>	0,603 <sup>**</sup>	0,525 <sup>**</sup>
Número de grãos	0,826 <sup>**</sup>	0,767 <sup>**</sup>	0,720 <sup>**</sup>	0,728 <sup>**</sup>
Conc. P	0,672 <sup>**</sup>	0,568 <sup>**</sup>	0,461 <sup>**</sup>	0,619 <sup>**</sup>
Conc. K	0,005 <sup>ns</sup>	0,105 <sup>ns</sup>	0,069 <sup>**</sup>	0,032 <sup>ns</sup>

Teste t a 5%. \*\* Significativo a 1% de probabilidade de erro; <sup>ns</sup>: não significativo; Conc. N: Concentração de nitrogênio; Conc. P: Concentração de Fósforo; Conc. K: Concentração de Potássio.

## DISCUSSÃO

A população de *Azospirillum* spp. foi alta mesmo nas parcelas sem inoculação o que corrobora com Dobereiner et al. (1976) que identificou este gênero como muito comum em solos tropicais. Porém, como houve resposta da inoculação mesmo sem aumento da população de bactérias, percebe-se que a estirpe inoculada foi mais eficiente na colonização do que a população nativa do solo. Desta forma, nossos resultados não indicam aumento na população e sim a presença de estirpes mais eficientes de *Azospirillum* spp.

A inoculação aumenta a colonização interna dos tecidos da raiz, folhas e do solo rizosférico, pois proporciona melhor contato da bactéria com a semente, aumentando o número de células na rizosfera. Assim, garante uma colonização precoce e aumenta a probabilidade dos efeitos benéficos das estirpes selecionadas sobre as plantas de milho (Cassán e Zorita, 2016; Fukami et al. 2016). Além disso, as estirpes de bactérias diazotróficas são identificadas e selecionadas para os inoculantes quanto a sua eficiência em fixar nitrogênio, em fazer associações com as plantas e maior tolerância a estresses abióticos (Reis Júnior et al., 2008).

Os resultados demonstraram que a inoculação com *A. brasilense* foi positiva para a nutrição das plantas de milho, proporcionando aumento nos teores de nitrogênio. Essas bactérias possuem capacidade comprovada de fixar nitrogênio, mas verificamos também que a inoculação aumentou a concentração de fósforo nas folhas de milho. García et al (2017) relataram que algumas estirpes de *Azospirillum* ssp. possuem capacidade de solubilizar fosfatos. Desse modo percebe-se que a inoculação favoreceu a aquisição de nutrientes pelas plantas. O *A. brasilense* estimula o crescimento radicular do milho, por meio da produção de fitormônios, proporcionando melhor exploração do solo pela planta favorecendo a absorção de nutrientes e água.

A inoculação afetou positivamente o crescimento vegetativo das plantas de milho no sistema PDC1, resultando em plantas mais altas e com maior diâmetro de colmo. Esse sistema não recebe calagem e fertilizantes minerais há aproximadamente 34 anos, o solo apresenta baixa fertilidade (Tabela 1) e conseqüente baixo teor nitrogênio no solo, assim a atividade do *A. brasilense* pode ter sido favorecida neste sistema. Em locais onde a disponibilidade de nitrogênio é um fator limitante para a produtividade, a resposta das plantas à inoculação é frequentemente observada (Cassan e Zorita, 2016).

A maior aquisição de nutrientes e o estímulo de crescimento possibilitaram um aumento nos componentes de produção no milho. O componente mais afetado foi o estande, pois a inoculação propiciou uma maior sobrevivência das plantas de milho e a cultura do milho apresenta baixa capacidade de compensar falhas na emergência das plantas. A maior sobrevivência está relacionada a capacidade das plantas sobreviverem a estresses abióticos quando inoculadas. Os estresses hídricos, de baixo nível de nutrientes e salino, são aliviados na presença do *A. brasilense* (Ferreira et al. 2013).

O melhor crescimento vegetativo do milho e maior acúmulo de nutrientes, em resposta a inoculação no sistema PDC1, resultou em aumento na produtividade. A inoculação foi equivalente ao fornecimento de 70 a 80 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, considerando a expectativa de produtividade de 4 t ha<sup>-1</sup>. Portanto, o PDC1 atingiu média de 4079 Kg ha<sup>-1</sup>, somente com a inoculação de *A. brasilense*, que corresponde a 74% da média de produtividade brasileira de milho, que foi de 5522 kg ha<sup>-1</sup> na safra 2017 (Conab, 2017). O aumento de produtividade também foi encontrado por Martins et al (2017), com ganho de 30% na produtividade de milho sem aplicação de nitrogênio em cobertura, e apenas 18 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio no plantio. Nos demais sistemas a inoculação não causou

aumento de produtividade, o que indica que a inoculação de plantas de milho com *A. brasilense* seja mais viável em ambientes de baixo *input* de nutrientes.

Os sistemas orgânicos não tiveram efeito da inoculação. Nestes sistemas os solos possuem boa fertilidade (Tabela 1). Além disso, a comunidade microbiana é mais ativa no sistema orgânico, devido principalmente, a maiores adições de resíduos que funcionam como substrato e fonte de energia para os microrganismos (Buêno e Mendes, 2010). A população de bactérias diazotróficas nativas e outros elementos da microbiota do solo, podem aumentar a competição com o *A. brasilense*, dificultando seu estabelecimento local. Esses microrganismos podem mascarar os efeitos da inoculação pela competição com as estirpes inoculadas. Os microrganismos nativos são adaptados as condições de solo e se estabelecem com mais facilidade que demais estirpes inoculadas (Sivapalan et al., 1993; Dobereiner e Pedrosa, 1987). A adição de composto orgânico não atua somente como fonte de nutrientes e matéria orgânica, mas incrementa o tamanho, a diversidade e a atividade das populações microbianas no solo (Buêno e Mendes, 2010).

Os solos sob os sistemas orgânicos apresentaram as maiores médias de matéria orgânica, porcentagem de saturação de bases em torno de 70%, além de maiores teores de fósforo e potássio no solo. A adubação orgânica do milho com composto na dose de  $40 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ , é capaz de promover a fertilidade do solo e proporcionar desenvolvimento satisfatório da cultura do milho (Maia e Cantarutti, 2004). Além disso, o sistema de plantio direto favorece o aumento do teor de matéria orgânica e nitrogênio no solo, especialmente quando há introdução de fabaceae no sistema.

## CONCLUSÕES

Nossos resultados demonstram que o uso de inoculantes de *A. brasilense* para a produção de milho é uma prática promissora, principalmente em condições de baixo *input*.

A inoculação com *A. brasilense* eleva a produtividade de grãos de milho em solos com baixa fertilidade, sendo uma alternativa para aumentar produtividade das culturas em áreas marginais, com reduzida adubação e, ou baixo nível tecnológico.

Em sistemas orgânicos estabilizados onde fertilidade do solo é elevada o efeito da inoculação é nulo, provavelmente pela maior disponibilidade de nitrogênio e a diversidade de microrganismos no solo.

## AGRADECIMENTOS

Empresa Total Biotecnologia®, pela doação do inoculante; à CAPES, à FAPEMIG e ao CNPq, pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

Argenta G, Silva PRF, Bortolini CG, Forsthofer EL, Strieder ML (2001) Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 13(2):158-167.

Balandreau J (2002) The spermosphere model to select for plant growth promoting bacteria. In: Kennedy IR, Choudhury ATMA (Eds.), *Biofertilisers in Action*, Rural Industries Research and Development Corporation, Barton (ACT, Australia) pp. 55-63.

Baldani VLD, Döbereiner J (1980) Host-plant specificity in infection of cereal with *Azospirillum* spp. *Soil Biol. Biochem.*, 12: 433-440.

Bueno F, Mendes I (2010) Microbiologia e qualidade do solo em sistemas de cultivo orgânico. EMBRAPA. Acesso em: 11 de outubro de 2018. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=21702&secao=Colunas%20e%20Artigos>>

Cassan F, Zorita MD (2016) *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. *Soil Biology and Biochemistry*, 103:117-130.

Coelho AM (2006) *Nutrição e adubação do milho*. 1ª ed. Sete Lagoas, Embrapa-CNPMS 10p.

Companhia Nacional de Abastecimento (2017) *Acompanhamento da safra brasileira de grãos: Monitoramento agrícola 2016/2017* Brasília : Conab.

Döbereiner J, Pedrosa FO (1987) Agronomic implications. In: Döbereiner, J.; Pedrosa, F.O. (Eds.). Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants. Madison : Science Tech. Publishers. Berlin : Springer-Verlag, 107-113.

Döbereiner J, Marriel, IE, Nery M (1976) Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. Can J Microbiol, 8: 45-50.

Dobbelaere S, Croonenborghs AAT, Ptacek D, Okon Y, Vanderleyden V (2002) Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakenses* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. Biology and Fertility of Soil, 36:284-297.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa (2013). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. Rio de Janeiro, 353p.

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.

Fibach-Paldi S, Burdman S, Okon Y (2012) Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. FEMS Microbiol, 326:99–108.

Fukami J, Nogueira MA, Araújo RS, Hungria M (2016) Assessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. AMB Express, 6:3.

García JE, Maroniche G, Creus C, Rodríguez RS, Trujillo JAR, Groppa MD (2017) In vitro PGPR properties and osmotic tolerance of different *Azospirillum* native strains and their effects on growth of maize under drought stress. Microbiological Research, 202: 21-29.

Gilchist JE, Campbell E, Donnelly CB, Peeler JT, Delaney JM (1973) Spiral plate method for bacterial determination. *Applied Microbiology*, 25:244-252.

Gijsman AJ, Hoogenboom G, Parton W, Kerridge PC (2002) Modifying DSSAT crop models for low-input agricultural systems using a soil organic matter–residue module from Century. *Agronomy Journal*, 94:462-474.

Hungria M, Campo RJ, Souza EM, Pedrosa FO (2010) Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, 331:413-425.

Kiehl EJ (1985) Fertilizantes orgânicos. Piracicaba: Agronômica Ceres. 492p.

Maia CE, Cantarutti RB (2004) Acumulação de nitrogênio e carbono no solo pela adubação orgânica e mineral contínua na cultura do milho. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola. Ambiental*, 8:39-44.

Martins RM, Jantalaia CP, Reis VM, Döwich I, Polidoro JC, Alves BJR, Boddey RM, Urquiaga S (2017) Impact of plant growth-promoting bacteria on grain yield, protein content, and urea-<sup>15</sup>N recovery by maize in a Cerrado Oxisol. *Plant and Soil*, 1-13.

Nunes PHMP, Aquino LA, Santos LPD, Xavier FO, Dezordi LR, Assunção NS (2015) Produtividade do trigo submetido à aplicação de nitrogênio e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, 39: 174-182.

Reis Júnior FB, Machado CTT, Machado AT, Mendes IC, Mehta A (2008) Isolamento, caracterização de estirpes de *Azospirillum amazonense* e *Herbaspirillum soropedicae* associados a diferentes variedades de milho cultivadas no Cerrado. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 36.

Saeg Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

Silvapalan A, Wendy C, Franz PR (1993) Monitoring Populations of Soil Microorganisms during a Conversion from a Conventional to an Organic System of Vegetable Growing. *Biological Agriculture and Horticulture*, 10:9-27.

Steenhoudt O, Vanderleyden J (2000) *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol*, 24:487-506.

Vasconcelos APR, Siqueira TP, Lana RMQ, Faria, MV, Nunes AA, Lana AMQ (2016) Seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and N fertilization of corn in the Cerrado biome. *Revista Ceres*, 63: 732-740.

## Artigo II

### Nutrição e crescimento de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* em sistema de plantio direto convencional e orgânico

#### RESUMO

*Azospirillum brasilense* além de fixar nitrogênio atmosférico pode melhorar a absorção de nutrientes do solo e fixar nitrogênio atmosférico. O nitrogênio é o nutriente mais limitante para a cultura do milho tanto em sistema convencional como no orgânico. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência da inoculação de *A. brasilense* no crescimento do milho e a concentração de macronutrientes nos tecidos foliares de milho em sistema orgânico e convencional. O experimento foi instalado no esquema fatorial 6 x 2, sendo seis sistemas de produção, com e sem inoculação com *A. brasilense*. Foram três tipos de sistemas convencionais de plantio direto (PDC1: sem adubação; PDC2: 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia) e três tipos de sistemas orgânicos (PDO1: composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>+ feijão-de-porco, *Canavalia ensiformis* DC). Foram avaliados os teores de nitrogênio, fósforo, potássio e magnésio foliar, altura de plantas, diâmetro de colmo e o Índice Spad. Houve resposta da inoculação somente no estágio R1 para o sistema PDC1. O teor de nitrogênio, potássio e magnésio não foi influenciado pela inoculação. O teor de fósforo foi maior quando inoculado no sistema PDC1, e ainda houve ganho de matéria seca e em altura de plantas do milho com a inoculação para esse sistema. A inoculação com *A. brasilense* não influencia os teores de N, P e K foliar nos estádios iniciais de crescimento do milho e proporciona maior teor de P foliar em R1.

**Palavras-chave:** Bactéria dizotrófica, macronutrientes, inoculação.

## INTRODUÇÃO

O milho é um cereal que está presente na maior parte das propriedades rurais do Brasil, sendo cultivado em grande e pequena escala (Galvão et al., 2014). É uma cultura de grande importância na alimentação humana e animal. Além de ser um dos principais cereais cultivados no mundo com grande importância econômica.

Para alcançar elevadas produtividades de grãos de milho, atenção especial deve ser dada ao manejo da adubação. A cultura do milho é exigente na nutrição de inúmeros nutrientes como o nitrogênio e o potássio, sendo considerada uma das culturas com maior poder de extração de nutrientes do solo (Setiyono et al., 2010).

Os solos brasileiros são, em sua maioria, de baixa fertilidade e não contém nitrogênio suficiente para o desenvolvimento da cultura do milho. Altas doses de adubação têm sido aplicadas para alcançar boas produtividades de milho, especialmente a adubação nitrogenada. O fósforo também possui o suprimento natural insatisfatório ao adequado crescimento de plantas (Nunes et al., 2015).

Atualmente tem-se procurado realizar manejos que visem a sustentabilidade ambiental das propriedades. Por isso, torna-se necessário utilizar alternativas que otimizem a adubação das culturas, ou seja, que os nutrientes sejam melhor aproveitados pelas culturas, reduzindo perdas seja por lixiviação ou volatilização. Bem como, reduzir a adubação nitrogenada através da fixação biológica. A maioria dos nutrientes aplicados geralmente não é absorvido pelas plantas, deixando o excesso suscetível a perdas. Estima-se que a eficiência do uso de nutrientes seja de aproximadamente 50% para nitrogênio (Chien et al., 2009), entre 15 e 30% para fósforo (Pereira et al., 2009) e cerca de 40% para potássio (Zou & Lu, 2010), demonstrando a importância de melhorar a absorção de nutrientes pelas culturas. O uso de microrganismos podem aumentar a eficiência do uso de nutrientes.

O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) tem-se apresentado promissor na agricultura. Essas bactérias oferecem uma maneira econômica e ambientalmente benéfica de reduzir o uso de fertilizantes químicos, herbicidas, pesticidas e outros suplementos artificiais (Adesemoye et al., 2009; Bhattacharyya, 2012). Portanto, a inoculação com *A. brasilense* torna-se uma alternativa também para melhorar a produtividade de milho em sistemas orgânicos, especialmente através do fornecimento do nitrogênio pela fixação biológica.

As BPCP podem promover o crescimento das plantas através de vários mecanismos biológicos (Glick, 2012), como a produção de hormônios de crescimento de plantas, como as auxinas. O *Azospirillum brasilense* é uma bactéria que pertence a esse grupo, e vem sendo bastante estudada devido ao seu potencial de influenciar no crescimento e produtividade da cultura do milho. O gênero *Azospirillum* é bastante conhecido por sua capacidade de produzir fitormônios e também de fixar nitrogênio atmosférico, mineralizar nutrientes, diminuir os estresses bióticos e abióticos, sobreviver em condições adversas e favorecer a associação benéfica de outras microfloras (Bashan & de-Bashan, 2010).

Essa bactéria estimula o crescimento radicular das plantas através da síntese de fitormônios, permitindo a melhor exploração do solo, favorecendo a absorção de nutrientes e água. Martins et al. (2017) concluíram que a inoculação em milho com *A. brasilense* melhorou a eficiência do uso da ureia. Os resultados indicaram que a inoculação melhora consideravelmente a eficiência de aquisição de nutrientes. Houve recuperação significativa de  $^{15}\text{N}$  derivado da ureia (até 71%), o que resultou em maior rendimento de grãos.

O objetivo do trabalho foi avaliar a influência da inoculação de *A. brasilense* no crescimento do milho e na concentração de macronutrientes nos tecidos foliares de milho em sistema orgânico e convencional.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no período de novembro de 2016 a abril de 2017 na estação experimental de Coimbra-MG (latitude de 20°45'S, longitude de 45°51'W, e altitude de 650 m), pertencente à Universidade Federal de Viçosa (UFV), situada no município de Coimbra, na Zona da Mata de Minas Gerais. Na figura 1 estão os dados climáticos referente ao período de condução do experimento. O solo da área experimental é classificado como Argissolo Vermelho Amarelo (EMBRAPA, 2013).

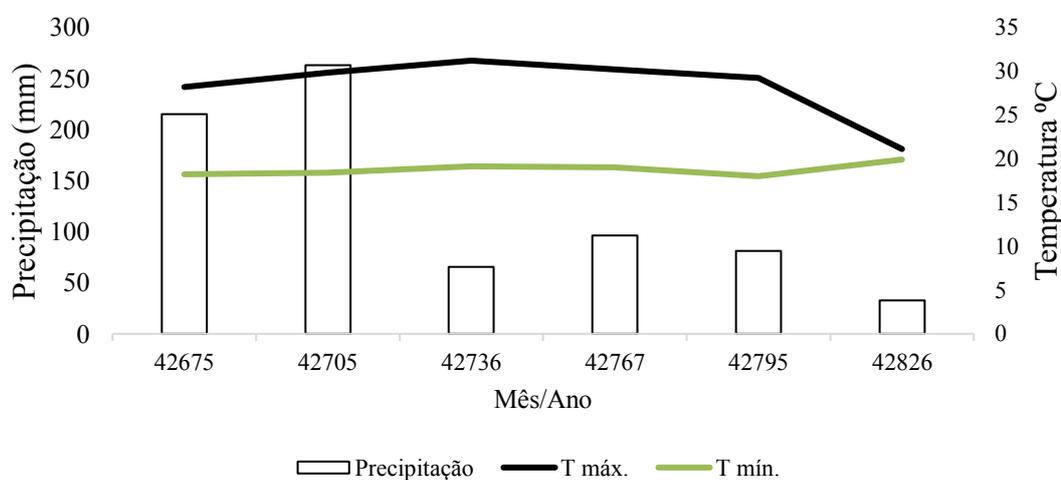


Figura 1- Precipitação e temperatura média durante a condução do experimento na safra 2016/17.

O experimento foi instalado em esquema fatorial 6 x 2, sendo seis tipos de sistema de plantio direto com e sem da inoculação de *A. brasilense* do milho. O delineamento foi o de blocos casualizados, com quatro repetições, totalizando 48 parcelas. Os tipos de

sistemas de plantio direto foram: Plantio direto convencional (PDC) sem adubação; PDC com adubação mineral na dose de 150 Kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia em cobertura; PDC com adubação mineral na dose de 300 Kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia em cobertura; plantio direto orgânico (PDO) com 40 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> de composto orgânico; PDO com 20 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> composto orgânico e PDO adubação com 40 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> de composto + consórcio com feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*). A parcela experimental foi formada por 10 linhas de milho com oito metros de comprimento, espaçadas entre si por 0,80 m (64 m<sup>2</sup>), sendo avaliadas as quatro linhas centrais de milho (19,2 m<sup>2</sup>).

A aveia-preta foi semeada a lanço na densidade de 80 Kg ha<sup>-1</sup> de sementes que foram incorporadas ao solo com a gradagem leve, na profundidade aproximada de 2 a 3 cm, sem adubação. No florescimento a aveia-preta foi cortada com roçadeira costal. A palhada ficou exposta ao sol para dessecação natural.

O semeio da variedade de milho AL Bandeirante foi manual, utilizando matracas, mantendo a população de 50.000 plantas ha<sup>-1</sup>, após desbaste. Nas parcelas com o consórcio de milho com feijão-de-porco, este foi semeado na densidade de cinco plantas por metro linear, simultaneamente ao milho, na mesma linha de plantio, utilizando matracas. Nos manejos orgânicos o composto foi aplicado em superfície ao lado da linha de semeio após a emergência do milho. No manejo convencional a adubação de plantio foi realizada no sulco e a de cobertura quando o milho estava com quatro folhas expandidas.

Os resultados da análise química do composto com base em massa de matéria seca, determinados de acordo com a metodologia descrita por Kiehl (1985), foram: 10,61% de carbono orgânico; 1,10 % de N total; 0,38% de P; 1,20% de K; 0,94% de Ca; 0,42% de

Mg; 0,53% de S; 0,158g de Zn; 37,686g de Fe; 0,239g de Mn; 0,068g de Cu; 0,0131g de B; 0,18% de Na e pH 8,83.

Para a inoculação das sementes de milho, foi utilizado o inoculante comercial líquido, AZOTOTAL<sup>®</sup>, que contém a bactéria *Azospirillum brasilense*, estirpes Abv5 e Abv6, na concentração mínima de  $2 \times 10^8$  células viáveis mL<sup>-1</sup>, segundo informações do fabricante. Foi utilizada a dose de 200 g ha<sup>-1</sup> do inoculante turfoso. A inoculação das sementes com o produto comercial AZOTOTAL<sup>®</sup> foi realizada a sombra no período da manhã, utilizando um balde de 10 litros. Foi utilizada solução açucarada 10% e a mistura realizada cuidadosamente para garantir a distribuição uniforme do inoculante nas sementes. Sendo a mistura realizada de forma manual.

Nas parcelas em PDC, o controle das plantas daninhas foi realizado com herbicidas pós-emergência, mistura dos herbicidas atrazine e nicossulfuron (1,50 e 0,030 kg ha<sup>-1</sup>) aos 20 DAE do milho. Nas parcelas em PDO o controle foi feito com ceifadeira motorizada, nas entrelinhas de plantio, nos estádios de duas e quatro folhas expandidas do milho.

Foram realizadas avaliações de altura de planta (cm), diâmetro (mm) de colmo, três estádios fenológicos ao longo do ciclo da cultura: quatro folhas completamente expandida (V4), na décima segunda folha completamente expandida (V12), no florescimento (R1).

Foram avaliados, ainda, o índice SPAD de clorofila, massa da matéria seca das plantas de milho, e os teores de nitrogênio, fósforo, potássio e magnésio foliar nos estádios V4, V12 e R1. A altura das plantas de milho foi determinada com auxílio de uma trena, compreendido entre a região da superfície do solo até o final da última folha completamente desenvolvida. Para determinar o diâmetro do colmo foi considerado o diâmetro do início do segundo internódio, a partir da base da planta, utilizando paquímetro digital.

O índice de clorofila foi feito na última folha completamente expandida do milho para os estádios V4 e V12. No estágio R1 a leitura foi feita na primeira folha abaixo e oposta a espiga. As leituras foram feitas com o clorofilômetro SPAD (Soil Plant Analysis Development) Minolta 502 DL PLUS. As leituras foram realizadas em quatro plantas por parcela, em três pontos situados no terço médio da folha, a partir da base, e a 2 cm de uma das margens (Argenta et al., 2001).

Para realizar a análise de tecido foliar (estado nutricional das plantas) foram coletadas 10 folhas por parcela, no estágio V4 e V12 foram coletadas a última folha completamente expandida, e no estágio de R1 foi coletada a primeira folha oposta e abaixo da primeira espiga. As amostras foram lavadas em água corrente e destilada, posteriormente foram levadas a estufa de ventilação forçada de ar, por 72 horas a 70 °C, para obtenção da matéria seca. O material seco foi moído em moinho de facas tipo Willey / Star FT80 e submetidos à análise química em laboratório. O Nitrogênio total (N) foi determinado pelo método de Kjeldahl. Foi realizada a digestão nitroperclórica do material vegetal para determinação dos teores de P por colorimetria, de K por fotômetro de chama e Mg por espectrofotometria de absorção atômica (Silva, 2009).

Foi feita análise conjunta dos dados estudando o comportamento das variáveis dentro de cada época avaliada. Os dados foram submetidos a análise de variância, e as médias comparadas utilizando o teste de Tukey, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. Independentemente de ser significativa a interação, foi feito o desdobramento das interações. Foi utilizado para as análises o programa estatístico SAEG (Saeg 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste experimento, a inoculação não proporcionou aumento nos teores de nitrogênio foliar do milho. Esse resultado não corrobora com a maior parte dos resultados encontrados nas pesquisas com a inoculação de *A. brasilense*, onde a inoculação proporcionou aumentos nos teores de nitrogênio na planta (Martins et al., 2018; Galindo et al., 2016). Isso possivelmente ocorreu porque os teores foliares de N estavam limitando o crescimento, desse modo os teores permaneceram no mínimo, muito abaixo do considerada adequada por Martinez et al. (1999), que é de 27,5-32,5 g/Kg, em todos os sistemas estudados (Tabela 1).

Por outro lado, nos sistemas PDO1 e PDO3 ocorreu maior teor de nitrogênio quando não inoculado no estágio V12. A concentração de nutrientes foliar pode variar, também, dependendo do ganho de massa seca da planta. As concentrações dos nutrientes podem se tornar mais diluídas em plantas com maior massa seca (Tabela 8) (Epstein & Bloom, 2006).

Tabela 1- Valores médios do teor de nitrogênio ( $\text{g Kg}^{-1}$ ) para as respectivas combinações de sistema, inoculação e épocas V4, V12 e R1, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*. Coimbra-MG, safra 2016/17.

Sistema	V4		V12		R1	
	NI	I	NI	I	NI	I
PDC1 <sup>1</sup>	22,88abA $\alpha$	21,91aA $\alpha$	10,32bB $\alpha$	12,65aB $\alpha$	10,00abB $\alpha$	10,67abB $\alpha$
PDC2	21,75bA $\alpha$	23,52aA $\alpha$	11,61bB $\alpha$	11,85aB $\alpha$	9,65bB $\alpha$	8,71bB $\alpha$
PDC3	26,17aA $\alpha$	24,17aA $\alpha$	10,96bB $\alpha$	13,30aB $\alpha$	9,84abB $\alpha$	10,08abC $\alpha$
PDO1	23,84abA $\alpha$	24,49aA $\alpha$	15,79aB $\alpha$	13,06aB $\beta$	10,40abC $\alpha$	9,43abC $\alpha$
PDO2	22,15bA $\alpha$	21,35aA $\alpha$	11,21bB $\alpha$	12,57aB $\alpha$	9,27bB $\alpha$	9,03bC $\alpha$
PDO3	21,67bA $\beta$	24,81aA $\alpha$	17,00aB $\alpha$	13,94aB $\beta$	13,70aC $\alpha$	13,21aB $\alpha$

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com  $150 \text{ kg ha}^{-1}$  formulado 8-28-16 +  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com  $300 \text{ kg ha}^{-1}$  formulado 8-28-16 +  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico  $40 \text{ m}^{-3} \text{ ha}^{-1}$ ; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico  $20 \text{ m}^{-3} \text{ ha}^{-1}$ ; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico  $40 \text{ m}^{-3} \text{ ha}^{-1}$  + feijão-de-porco. NI: Não inoculado; I: Inoculado.

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas, minúsculas na coluna e letra grega em inoculação dentro de cada época para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Já o teor de fósforo do sistema PDC1 no estágio R1 foi superior nas folhas do milho inoculado em relação ao não-inoculado (Tabela 2). A inoculação com *A. brasilense* pode melhorar a absorção de vários macro e micronutrientes, aumentando a eficiência da planta no uso de nutrientes disponíveis (Hungria et al., 2010), o que pode ajudar a explicar um aumento na concentração de fósforo no tecido foliar. Outra possível explicação para o aumento da concentração de fósforo nas folhas está relacionada à capacidade de algumas bactérias endofíticas promoverem o crescimento das plantas por meio da solubilização do fosfato (Collavino et al., 2010).

Tabela 2- Valores médios do teor de fósforo ( $\text{g Kg}^{-1}$ ) para as respectivas combinações de sistema, inoculação e épocas V4, V12 e R1, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*. Coimbra-MG, safra 2016/17.

Sistema	V4		V12		R1	
	NI	I	NI	I	NI	I
PDC1 <sup>1</sup>	4,43cA $\alpha$	5,29abA $\alpha$	2,61bB $\alpha$	3,57abB $\alpha$	2,55cB $\beta$	3,92abcB $\alpha$
PDC2	5,98abcA $\alpha$	4,69abA $\beta$	2,69abB $\alpha$	3,25abB $\alpha$	2,65cB $\alpha$	3,08bcB $\alpha$
PDC3	4,62bcA $\alpha$	3,82bA $\alpha$	2,73abB $\alpha$	2,59bB $\alpha$	3,12bcB $\alpha$	2,87cA $\beta$
PDO1	6,34aA $\alpha$	4,79abA $\beta$	4,18aB $\alpha$	4,51aA $\alpha$	4,99aB $\alpha$	4,72aA $\alpha$
PDO2	5,99abA $\alpha$	5,95aA $\alpha$	4,18aB $\alpha$	4,09abB $\alpha$	4,68aB $\alpha$	4,73aA $\beta$
PDO3	4,62bcA $\alpha$	4,47abA $\alpha$	3,98aA $\alpha$	3,47abA $\alpha$	4,17abA $\alpha$	4,54abA $\alpha$

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com  $150 \text{ kg ha}^{-1}$  formulado 8-28-16 +  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com  $300 \text{ kg ha}^{-1}$  formulado 8-28-16 +  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico  $40 \text{ m}^{-3} \text{ ha}^{-1}$ ; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico  $20 \text{ m}^{-3} \text{ ha}^{-1}$ ; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico  $40 \text{ m}^{-3} \text{ ha}^{-1}$  + feijão-de-porco. NI: Não inoculado; I: Inoculado

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas, minúsculas na coluna e letra grega em inoculação dentro de cada época para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Entretanto, os teores de potássio e magnésio, quando inoculado, foram menores no sistema PDC1 no estágio R1 e no sistema PDO1 no estágio V4, respectivamente. Já no sistema PDC1 houve aumento no teor de magnésio no estágio V4 quando inoculado (Tabelas 3 e 4). Baldotto et al., 2012 avaliando o desempenho inicial de milho com inoculação de bactéria diazotrófica (*Herbaspirillum seropedicae*), encontraram aumentos no acúmulo de N, P e K na parte aérea de plantas de milho quando comparado com uso de fertilizante apenas.

Tabela 3- Valores médios do teor de potássio ( $\text{g Kg}^{-1}$ ) para as respectivas combinações de sistema, inoculação e épocas V4, V12 e R1, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*. Coimbra-MG, safra 2016/17.

Sistema	V4		V12		R1	
	NI	I	NI	I	NI	I
PDC1 <sup>1</sup>	8,41aB $\alpha$	8,41aB $\alpha$	4,16aC $\alpha$	5,29aC $\alpha$	24,84abA $\alpha$	22,81bA $\beta$
PDC2	8,77aB $\alpha$	8,39aB $\alpha$	5,56aC $\alpha$	5,00aC $\alpha$	25,31aA $\alpha$	25,47aA $\alpha$
PDC3	8,72aB $\alpha$	9,46aB $\alpha$	5,06aC $\alpha$	5,00aC $\alpha$	25,47aA $\alpha$	24,23abA $\alpha$
PDO1	8,62aB $\alpha$	8,47aB $\alpha$	5,56aC $\alpha$	4,97aC $\alpha$	22,66bA $\alpha$	24,22abA $\alpha$
PDO2	7,67aB $\alpha$	8,47aB $\alpha$	5,38aC $\alpha$	5,09aC $\alpha$	24,37abA $\alpha$	23,90abA $\alpha$
PDO3	9,50aB $\alpha$	8,00aB $\alpha$	5,15aC $\alpha$	5,00aC $\alpha$	25,78aA $\alpha$	25,31aA $\alpha$

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com  $150 \text{ kg ha}^{-1}$  formulado 8-28-16 +  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com  $300 \text{ kg ha}^{-1}$  formulado 8-28-16 +  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico  $40 \text{ m}^{-3} \text{ ha}^{-1}$ ; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico  $20 \text{ m}^{-3} \text{ ha}^{-1}$ ; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico  $40 \text{ m}^{-3} \text{ ha}^{-1}$  + feijão-de-porco. NI: Não inoculado; I: Inoculado.

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas, minúsculas na coluna e letra grega em inoculação dentro de cada época para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Tabela 4- Valores médios do teor de magnésio (g Kg<sup>-1</sup>) para as respectivas combinações de sistema, inoculação e épocas V4, V12 e R1, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*. Coimbra-MG, safra 2016/17.

Sistema	V4		V12		R1	
	NI	I	NI	I	NI	I
PDC1 <sup>1</sup>	4,11bAβ	4,73aAα	1,41abCα	1,65abBα	2,17abBα	2,14aBα
PDC2	4,41abAα	4,13abAα	1,34abBα	1,45abBα	1,64bcBα	1,71abBα
PDC3	3,84bAα	4,07abAα	0,94bBα	1,18bBα	1,38cBα	1,32bBα
PDO1	4,85aAα	3,99bAβ	1,75aCα	2,05aBα	2,57aBα	2,20aBα
PDO2	4,39abAα	4,07abAα	1,79aBα	1,62abBα	2,28abBα	1,89abBα
PDO3	3,91bAα	3,77bAα	1,63aBα	1,60abBα	2,11abBα	2,08aBα

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> + feijão-de-porco. NI: Não inoculado; I: Inoculado

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas, minúsculas na coluna e letra grega em inoculação dentro de cada época para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

A inoculação proporcionou maior Índice Spad no PDC1 em dois estádios fenológicos, apesar do teor de N foliar não ter sido influenciado pela inoculação (Tabela 5). Pois, o aumento no índice de clorofila tem correlação positiva com teor de nitrogênio na planta (Gil, et al., 2002; Barcelos et al., 2016). Kappes et al. (2013) e Quadros et al. (2014) verificaram que plantas de milho inoculadas com *A. brasilense* apresentaram maiores Índice Spad, corroborando com os dados do presente estudo.

Tabela 5- Valores médios do índice Spad para as respectivas combinações de sistema, inoculação e épocas V4, V12 e R1, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*. Coimbra-MG, safra 2016/17.

Sistema	V4		V12		R1	
	NI	I	NI	I	NI	I
PDC1 <sup>1</sup>	30,99aAα	30,52aBα	31,18cAβ	37,23abAα	27,98cAβ	27,98cAβ
PDC2	32,56aAα	31,92aAα	36,03bcAα	36,38bAα	32,50bcAα	32,50bcAα
PDC3	34,72aAα	34,94aAα	37,91abAα	37,41abAα	37,78bAα	37,78bAα
PDO1	34,51aBα	33,87aAα	41,07abAα	37,40abAα	38,19bABα	38,19bABα
PDO2	31,21aAα	32,12aAα	35,77bcAα	36,64abAα	36,35bAα	36,35bAα
PDO3	36,41aBα	36,31aBα	43,38aAα	43,00aAα	44,77aAα	44,77aAα

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> + feijão-de-porco. NI: Não inoculado; I: Inoculado  
Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas, minúsculas na coluna e letra grega em inoculação dentro de cada época para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

A inoculação com *A. brasilense* proporcionou os melhores resultados de altura de planta de milho e maior ganho de massa seca no sistema PDC1, e não teve efeito sobre diâmetro de colmo do milho (Tabelas 6, 7 e 8). Os resultados obtidos corroboram com Dartora et al., (2013), que encontraram efeito da inoculação de *A. brasilense* sobre a altura de planta de milho, nas fases vegetativa e reprodutiva.

O PDC1 foi o único sistema que houve efeito positivo da inoculação. Este sistema não recebe fertilizantes minerais há aproximadamente 34 anos. Assim, o solo apresenta baixa fertilidade e conseqüente baixo teor nitrogênio no solo, fator que pode ter favorecido a atividade do *A. brasilense* neste sistema. A colonização de bactérias

diazotróficas em raízes inoculadas de milho foi melhorada com a aplicação de fertilizantes em taxas menores, como demonstrado por Baldotto et al. (2012).

Além disso, a inoculação com *A. brasilense* estimula o crescimento radicular do milho, por meio da produção de fitormônios. As bactérias do gênero *Azospirillum* são promotoras do crescimento de plantas pela capacidade produzir vários fitormônios, proporcionando plantas mais altas e ganho de massa seca aérea e radicular das plantas (Cassán et al. 2014).

De maneira geral, os teores de macronutrientes nos estádios iniciais não foram influenciados pela inoculação. Os efeitos foram observados principalmente no estágio R1 no sistema PDC1. E ainda houve efeito da inoculação somente nos sistemas convencionais. Nossos resultados corroboram os de Calvo et al. (2016), que não houve efeito da inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas na absorção de N, P, K e no crescimento inicial de milho (V2 e V4).

No estágio fenológico R1 a demanda por nutrientes é alta, principalmente o nitrogênio, sendo o pico de máxima absorção deste nutriente do estágio de florescimento ao início do enchimento de grãos. Assim, a associação com *A. brasilense* torna-se bastante vantajosa para a planta de milho neste período. Normalmente as associações de plantas com microrganismos ocorre no período de maior demanda de nutrientes e água. A população de *A. brasilense* na rizosfera e nos tecidos da planta aumenta no estágio de florescimento e enchimento de grãos em milho (Moreira e Siqueira, 2006). A baixa resposta a inoculação no estágio V4 está associada ao desenvolvimento do sistema radicular do milho, que ainda está sendo formado neste estágio. E ainda a baixa exigência nutricional nos estádios iniciais, especialmente o nitrogênio (Fancelli, 2015).

Os sistemas orgânicos não foram influenciados pela inoculação. A ausência de efeito da inoculação com *A. brasilense* nos sistemas orgânicos pode ser justificada pela

característica apresentada do solo neste sistema. Ou seja, os sistemas orgânicos apresentam solos com boa fertilidade e qualidade biológica. A adição de resíduos orgânicos neste sistema atua como fonte de nutrientes e matéria orgânica, e também incrementa o tamanho, a diversidade e a atividade das populações microbianas no solo (Bueno e Mendes, 2010).

Tabela 6- Valores médios de altura de plantas de milho (cm) para as respectivas combinações de sistema, inoculação e épocas V4, V12 e R1, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*. Coimbra-MG, safra 2016/17.

Sistema	V4		V12		R1	
	NI	I	NI	I	NI	I
PDC1 <sup>1</sup>	7,05aB $\alpha$	9,19aC $\alpha$	29,75dB $\beta$	60,37bcB $\alpha$	96,50cA $\beta$	131,33bA $\alpha$
PDC2	9,10aC $\alpha$	8,47aC $\alpha$	50,96cdB $\alpha$	52,47cB $\alpha$	130,25bA $\alpha$	128,18bA $\alpha$
PDC3	9,44aC $\alpha$	10,50aC $\alpha$	72,00bcB $\alpha$	83,81bB $\alpha$	142,37bA $\alpha$	154,81abA $\alpha$
PDO1	14,14aC $\alpha$	10,35aC $\alpha$	87,09bB $\alpha$	72,47bcB $\alpha$	155,81abA $\alpha$	145,87abA $\alpha$
PDO2	11,44aC $\alpha$	11,39aC $\alpha$	66,56bcB $\alpha$	69,75bcB $\alpha$	142,06bA $\alpha$	132,56bA $\alpha$
PDO3	16,29aC $\alpha$	16,67aC $\alpha$	123,25aB $\alpha$	117,00aB $\alpha$	179,25aA $\alpha$	168,94aA $\alpha$

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> + feijão-de-porco. NI: Não inoculado; I: Inoculado

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas, minúsculas na coluna e letra grega em inoculação dentro de cada época para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Tabela 7- Valores médios de diâmetro de colmo de milho (mm) para as respectivas combinações de sistema, inoculação e épocas V4, V12 e R1, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*. Coimbra-MG, safra 2016/17.

Sistema	V4		V12		R1	
	NI	I	NI	I	NI	I
PDC1 <sup>1</sup>	6,48cC $\alpha$	8,51bB $\alpha$	19,15abA $\alpha$	17,55aA $\alpha$	14,94bC $\alpha$	16,75aA $\alpha$
PDC2	7,09cC $\alpha$	7,87bC $\alpha$	21,48aA $\alpha$	19,69aA $\alpha$	17,27abC $\alpha$	16,57aC $\alpha$
PDC3	9,53bcB $\alpha$	8,90abB $\alpha$	19,07abA $\alpha$	18,77aA $\alpha$	18,53abA $\alpha$	18,68aA $\alpha$
PDO1	11,40abB $\alpha$	9,17abB $\alpha$	18,74abA $\alpha$	18,02aA $\alpha$	19,36aA $\alpha$	18,17aA $\alpha$
PDO2	9,23bcB $\alpha$	8,85abB $\alpha$	17,65bA $\alpha$	18,04aA $\alpha$	18,57abA $\alpha$	16,81aA $\alpha$
PDO3	13,93aB $\alpha$	12,43aB $\alpha$	18,31abA $\alpha$	18,57aA $\alpha$	19,73aA $\alpha$	20,10aA $\alpha$

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> + feijão-de-porco. NI: Não inoculado; I: Inoculado

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas, minúsculas na coluna e letra grega em inoculação dentro de cada época para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Tabela 8- Valores médios de massa seca da parte aérea milho (g pl<sup>-1</sup>) para as respectivas combinações de sistema, inoculação e épocas V4, V12 e R1, em diferentes sistemas de plantio direto de milho em função da inoculação com *A. brasilense*. Coimbra-MG, safra 2016/17.

Sistema	V4		V12		R1	
	NI	I	NI	I	NI	I
PDC1 <sup>1</sup>	1,06aBα	1,41aBα	28,08aBα	37,49aBα	74,32cAβ	125,61aAα
PDC2	1,33aBα	1,35aBα	35,56aBα	27,90aBα	113,67abcAα	103,98aAα
PDC3	1,71aCα	1,68aCα	49,57aBα	53,00aBα	91,67abcAβ	144,59aAα
PDO1	1,92aCα	1,99aCα	56,37aBα	44,11aBα	131,68aAα	117,95aAα
PDO2	1,69aBα	1,58aCα	38,29aBα	45,61aBα	127,10abAα	140,06aAα
PDO3	3,19aBα	2,59aCα	71,40aAα	57,28aBα	83,92bcAα	101,90aAα

<sup>1</sup>PDC1: Plantio direto convencional sem adubação; PDC2: Plantio direto convencional com 150 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 50 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDC3: Plantio direto convencional com 300 kg ha<sup>-1</sup> formulado 8-28-16 + 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia; PDO1: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO2: Plantio direto orgânico com composto orgânico 20 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup>; PDO3: Plantio direto orgânico com composto orgânico 40 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> + feijão-de-porco. NI: Não inoculado; I: Inoculado Médias seguidas de letras maiúsculas iguais nas linhas, minúsculas na coluna e letra grega em inoculação dentro de cada época para cada variável, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

## CONCLUSÕES

A inoculação com *A. brasilense* não influencia os teores de N, P e K foliar nos estádios iniciais de crescimento do milho nos sistemas orgânicos e convencionais. A inoculação proporcionou maior teor de P foliar em R1 para o sistema sem adubação.

A inoculação promove maior crescimento das plantas de milho em sistema convencional de baixa fertilidade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADESEMOYE, A. O.; TORBERT, H. A.; KLOEPPER, J. W. *Plant growth-promoting Rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers*. Microbial Ecology, v. 58, p. 921-929, 2009.

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BORTOLINI, C. G.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M. L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.

BARCELOS J. P.; FURLANI JUNIOR, E.; REIS, H. P. G.; PUTTI, F. F.; REIS, A. R. *Diagnóstico da exigência do algodoeiro em nitrogênio e níquel pela utilização do medidor portátil de clorofila*. Brazilian Journal of Biosystems Engineering, v. 10, p. 97-106, 2016.

BASHAN, Y.; 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.

BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B.; SANTANA, R. B.; MARCIANO, C. B. *Initial performance of maize in response to NPK fertilization combined with Herbaspirillum seropedicae*. Revista Ceres, v. 59, n.6, p. 841-849, 2012.

BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K.; *Plant growth-promoting Rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 28, p. 1327-1350, 2012.

BUENO, F.; MENDES, I. Microbiologia e qualidade do solo em sistemas de cultivo orgânico. EMBRAPA, 2010. Acesso em: 11 de outubro de 2018. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=21702&secao=Colunas%20e%20Artigos>>

CASSÁN, F.; VANDERLEYDEN, J.; SPAEPEN, S. *Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus Azospirillum*. Journal of Plant Growth Regulation, v. 33, p. 440–459, 2014.

CALVO, P.; WATTS, D. B.; KLOEPPER, J. W. TORBERT, H. A.V. *Effect of microbial-based inoculants on nutrient concentrations and early root morphology of corn (Zea mays)*. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, v. 180, p. 56–70, 2017.

CHIEN, S.H.; PROCHNOW, L.I.; CANTARELLA, H. *Recent developments of fertilizer production and use to improve nutrient efficiency and minimize environmental impacts*. Advances in Agronomy, v.102, p. 267-322, 2009.

COLLAVINO, M. M.; SANSBERRO, P. A.; MROGINSKI, L. A.; AGUILAR, O. M. *Comparison of in vitro solubilization activity of diverse phosphate-solubilizing bacteria native to acid soil and their ability to promote Phaseolus vulgaris growth*. Biology Fertility of Soils, v. 46, p.727-38, 2010.

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 Engenharia Agrícola e Ambiental, v.17, n.10, p.1023–1029, 2013.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa (2013). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. Rio de Janeiro, 353p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. Componentes inorgânicos de plantas. In: EPSTEIN, E.; BLOOM, A. *Nutrição Mineral de Plantas: Princípios e Perspectivas*. (Org.). Londrina: Editora Planta, 2006. P. 41-65.

FANCELLI, L. A. Ecofisiologia, fenologia e implicações básicas de manejo. In: BORÉM, A.; GALVÃO, J. C. C.; PIMENTEL, M. A. *Milho: do plantio a colheita*. (Org.). Viçosa, MG: Ed. UFV, 2015.

GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V.; TROGELLO, E.; FRITSCHÉ-NETO, R. *Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho*. Revista Ceres, v.61, p.819-828, 2014.

GIL, P. T.; FONTES, P. C. R.; CECON, P. R.; FERREIRA, F. A. *Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio e para o prognóstico da produtividade da batata*. Horticultura Brasileira, v.20, p.611-615, 2002.

GLICK, B. R. *Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications*. Scientifica, v. 1, p. 15, 2012.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, v. 331, p. 413-425, 2010.

PEREIRA, H. S. Fósforo e potássio exigem manejos diferenciados. *Visão agrícola* nº9, 2009.

KIEHL, E. J. *Fertilizantes orgânicos*. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1985. 492p.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M, V.; FERREIRA, J. P.; DAL BEM, E. A.; PORTUGAL, J. R.; VILELA, R. G. *Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho*. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 34, p.527-38, 2013.

MARTINEZ, H. E. P.; CARVALHO, J. G.; SOUZA, R. B. Diagnose foliar. In: Ribeiro, A. C.; Guimarães, P. T. G.; ALVAREZ, V. *5ª Aproximação*. (Org.). Viçosa, MG, 1999. p.143-167.

MARTINS, R. M, JANTALAIA, C. P.; REIS, V. M; DÖWICH, I; POLIDORO, J. C.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. *Impact of plant growth-promoting bacteria on grain yield, protein content, and urea-<sup>15</sup> N recovery by maize in a Cerrado Oxisol*. *Plant and Soil*, 1-13, 2017.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Fixação biológica de nitrogênio atmosférico. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e bioquímica do solo*. 2 ed. Lavras : Editora UFLA, 2006

NUNES, P. H. M. P.; AQUINO, L. A.; SANTOS, L. P. D.; XAVIER, F. O.; DEZORDI, L. R.; ASSUNÇÃO, N. S. *Produtividade do trigo submetido à aplicação de nitrogênio e à inoculação com Azospirillum brasilense*. Revista Brasileira Ciência do Solo, v. 39: p. 174-82, 2015.

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, p. 209-18, 2014.

Saeg Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SETIYONO, T. D.; WALTERS, D. T.; CASSMAN, K. G.; WITT, C.; DOBERMANN, A. *Estimating maize nutrient uptake requirements*. Field Crops Research, v.118, p. 158-168, 2010.

SILVA, F. C. Manual de análises de solos, plantas e fertilizantes. 2. Ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

ZOU, J.; LU, J. W. Yield response of winter rapeseed to potassium fertilization, use efficiency and soil's potassium critical level in the Yangtze River Valley. *e-ifc - International Fertilizer Correspondent*. n. 23, p. 13-20, 2010.

## Considerações finais

As condições prévias de fertilidade e da microbiota do solo influenciam na resposta da cultura do milho a inoculação com *A. brasilense*, podendo proporcionar expressivos aumentos na produtividade do milho em solos de baixa fertilidade ou a ausência de resposta da inoculação em solos de boa fertilidade, como foi observado no sistema orgânico. Os resultados permitem afirmar que a disponibilidade de nitrogênio no solo, pode inibir o efeito da inoculação com *A. brasilense*, seja em sistema orgânico ou convencional.

Entretanto, os efeitos da inoculação com *A. brasilense* dependem ainda do genótipo da planta hospedeira, da competitividade e sobrevivência das estirpes do inoculante em relação às estirpes nativas do solo. Mas é evidente os benefícios trazidos por essa bactéria ao desenvolvimento das plantas de milho, como ganho em crescimento, sobrevivência de plantas no estande final e aumentos nos teores de nitrogênio e fósforo foliar, se mostrando promissora no aumento de produtividade do milho principalmente em solos com baixo *input* de nutrientes.

Os sistemas orgânicos proporcionaram as maiores médias de produtividade de milho, independente da inoculação. Os sistemas orgânicos já possuíam boa fertilidade do solo e assim proporcionaram desenvolvimento adequado da cultura do milho com reflexo positivo na produtividade. Porém, em sistemas de conversão para o orgânico, em que os teores de nutrientes do solo ainda são baixos, e as condições físicas e biológicas do solo não são favoráveis, os efeitos da inoculação com *A. brasilense* podem ser positivos.

## Anexo 1-

### Análises de variância dos dados do Artigo 1.

Resumo da análise de variância da contagem de *Azospirillum* spp. em solo antes do plantio e no solo rizosférico, folhas e raízes de milho na safra 2016/17.

FV	GL	Quadrados Médios			
		Solo antes do plantio	Solo rizosférico	Raiz	Folha
Bl	3	0,12	0,23	1,91	0,33
Sistema (S)	5	0,14*	0,36**	0,27 <sup>ns</sup>	0,16 <sup>ns</sup>
Inoculação (I)	1	0,01 <sup>ns</sup>	0,20 <sup>ns</sup>	2,87 <sup>ns</sup>	0,28 <sup>ns</sup>
SxI	5	0,05 <sup>ns</sup>	0,12 <sup>ns</sup>	0,51 <sup>ns</sup>	0,14 <sup>ns</sup>
Resíduo	33	0,053	0,46	0,75	0,23
CV (%)	-	3,21	2,81	16,60	9,21

\*\* - F significativo a 1%; \* - F significativo a 5%; <sup>ns</sup>: não significativo

Resumo da análise de variância dos caracteres teor de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) foliar, Índice Spad nos estádios V4, V12 e R1, massa seca nos estádios V4 e V12, prolificidade (prol.) e estande de milho. Coimbra-MG, Safras 2015/16 e 2016/17.

FV	GL	Quadrados Médios									
		N	P	K	Índice Spad			Massa	Massa	Prol.	Estande
					V4	V12	R1	seca	seca		
BL	3	3,67	0,60	0,74	2,36	7,29	17,57	3,28	219,02	0,00	79347120
Sistema (S)	5	62,15**	4,63**	1,21 <sup>ns</sup>	45,08**	164,50**	123,17**	10,45*	1219,97**	0,05*	21960500 <sup>ns</sup>
Inoculação (I)	1	1,25 <sup>ns</sup>	0,26 <sup>ns</sup>	1,44 <sup>ns</sup>	4,90 <sup>ns</sup>	13,52 <sup>ns</sup>	2,99 <sup>ns</sup>	3,63 <sup>ns</sup>	103,43 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	6342286 <sup>ns</sup>
SxI	5	7,37**	1,07**	0,28 <sup>ns</sup>	1,20 <sup>ns</sup>	13,75 <sup>ns</sup>	14,65 <sup>ns</sup>	4,07 <sup>ns</sup>	105,30 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	42895550*
Resíduo	33	1,67	0,167	1,20	3,57	6,49	8,89	3,83	186,57	0,02	14062100
CV (%)	-	8,64	10,37	5,58	5,30	6,48	7,89	53,52	31,24	13,66	7,40

\*\* - F significativo a 1%; \* - F significativo a 5%; <sup>ns</sup>: não significativo

Resumo da análise de variância dos caracteres diâmetro de colmo nos estádios V4, V12 e R1, altura de plantas nos estádios V4, V12 e R1, números de fileiras por espiga, números de grãos por fileira, massa de mil grãos e produtividade de milho (Prod.). Coimbra-MG, Safras 2015/16 e 2016/17.

FV	GL	Quadrados Médios									
		Diâmetro			Altura			Número de fileiras	Grãos por fileira	Massa de grãos	Prod.
		V4	V12	R1	V4	V12	R1				
BL	3	0,88	290,95	1,00	2,61	267,66	274,63	0,09	1,11	139,64	784578
Sistema (S)	5	19,37**	5,57 <sup>ns</sup>	32,01**	68,73**	3896,40**	4455,12**	1,77*	55,38**	2296,64**	17539770**
Inoculação (I)	1	0,12 <sup>ns</sup>	3,00 <sup>ns</sup>	3,01 <sup>ns</sup>	1,00 <sup>ns</sup>	41,12 <sup>ns</sup>	442,41 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>	7,17 <sup>ns</sup>	158,49 <sup>ns</sup>	899711,60 <sup>ns</sup>
SxI	5	3,77 <sup>ns</sup>	1,35 <sup>ns</sup>	7,15**	9,9588 <sup>ns</sup>	446,98 <sup>ns</sup>	498,05**	0,95 <sup>ns</sup>	35,70**	555,85**	3445136**
Resíduo	33	1,91	6,63	1,87	3,49	255,40	178,82	0,51	4,79	108,52	675804,10
CV (%)	-	14,69	12,32	7,85	12,20	23,17	8,44	4,93	7,55	3,75	18,73

\*\* - F significativo a 1%; \* - F significativo a 5%; <sup>ns</sup>: não significativo

Anexo 2- Análise de variância dos dados Artigo 2.

Resumo da análise de variância dos caracteres nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), magnésio (Mg), Índice Spad (Spad), diâmetro de colmo, altura de plantas e massa seca do milho para as respectivas combinações de sistema, inoculação e épocas. Coimbra-MG, safra 2016/17.

FV	GL	Quadrado médio							
		N	P	K	Mg	Spad	Altura	Diâmetro	Massa seca
Bl/E	9	5,72	0,36	0,70	0,08	13,25	333,75	3,30	479,25
Sistema (S)	5	34,36**	11,23**	2,89 <sup>ns</sup>	1,68**	254,40**	6627,35**	28,60**	917,97 <sup>ns</sup>
Inoculação (I)	1	0,03 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	1,29 <sup>ns</sup>	0,18 <sup>ns</sup>	0,13 <sup>ns</sup>	185,51 <sup>ns</sup>	7,05 <sup>ns</sup>	1045,61 <sup>ns</sup>
Época (E)	2	2241,29**	33,22**	5143,79**	97,16**	242,22**	206585,70**	1266,44**	150964,8**
S x I	5	2,03 <sup>ns</sup>	1,86**	0,71 <sup>ns</sup>	0,33*	32,64**	805,65**	3,66 <sup>ns</sup>	893,25 <sup>ns</sup>
S x E	10	10,50**	1,17*	2,01 <sup>ns</sup>	0,27**	17,64*	1258,24**	15,33**	1116,72*
I x E	2	1,04 <sup>ns</sup>	1,99*	0,38 <sup>ns</sup>	0,25 <sup>ns</sup>	1,10 <sup>ns</sup>	62,08 <sup>ns</sup>	0,32 <sup>ns</sup>	1567,56*
S x I x E	10	9,04**	0,46 <sup>ns</sup>	2,12 <sup>ns</sup>	0,18 <sup>ns</sup>	12,17 <sup>ns</sup>	172,45 <sup>ns</sup>	3,50 <sup>ns</sup>	485,96 <sup>ns</sup>
Resíduo	99	3,60	0,53	1,26	0,11	9,68	191,33	3,36	501,58
CV (%)		12,27	17,63	8,81	12,90	8,70	18,26	11,93	41,42

\*\* - F significativo a 1%; \* - F significativo a 5%; <sup>ns</sup>: não significativa

