

JEFERSON GIEHL

INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* EM HÍBRIDOS COMERCIAIS DE MILHO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2017

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

T

G454i
2017 Giehl, Jeferson, 1992-
Inoculação de *Azospirillum brasilense* em híbridos
comerciais de milho / Jeferson Giehl. – Viçosa, MG, 2017.
v, 24f. ; 29 cm.

Orientador: João Carlos Cardoso Galvão.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.21-24.

1. *Zea mays*. 2. Milho - Fixação de nitrogênio. 3.
Azospirillum brasilense. 4. Crescimento vegetal. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de
Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22 ed. 633.15

JEFERSON GIEHL

INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* EM HÍBRIDOS COMERCIAIS DE MILHO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

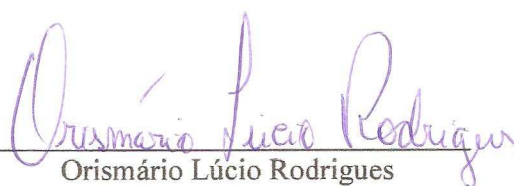
APROVADA: 24 de julho de 2017



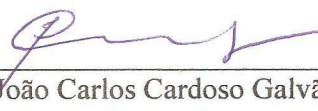
Rodrigo Oliveira de Lima
(Coorientador)



Marliane de Cássia Soares da Silva
(Coorientadora)



Orismário Lúcio Rodrigues



João Carlos Cardoso Galvão
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Paulo e Clair, e irmãos Douglas e Alexandre, pelo apoio e incentivo. A vocês devo tudo que sou.

Aos meus colegas de orientação e demais amigos, pelo apoio e auxílio na execução dos experimentos. Lembrarei de todos com muito carinho.

Aos colaboradores da Estação Experimental de Coimbra-MG, pelo auxílio e cuidado com o experimento. Sua dedicação no trabalho será minha inspiração.

Ao orientador, coorientadores e demais conselheiros, pelas orientações. Levarei suas palavras por toda vida.

Ao Programa de Pós-graduação em Fitotecnia e à Universidade Federal de Viçosa pela possibilidade de cursar o mestrado.

À empresa Total Biotecnologia e o Programa Milho, pelo fornecimento do material necessário ao experimento.

Aos Laboratórios de Associações Micorrízicas e Nutrição Mineral de Plantas pelo espaço e estrutura para realização das análises.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa.

Muito Obrigado.

RESUMO

GIEHL, Jeferson, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2017. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* em híbridos comerciais de milho**. Orientador: João Carlos Cardoso Galvão. Coorientadores: Rodrigo Oliveira de Lima e Marliane de Cássia Soares da Silva.

A cultura do milho é uma cultura onde o nutriente mais requerido é o nitrogênio, assim sendo também o nutriente que mais limita a produtividade. Uma alternativa para o fornecimento desse elemento às culturas é a fixação biológica de N. No caso do milho foram identificadas bactérias do gênero *Azospirillum*, associadas às raízes da planta. Esse gênero é capaz de realizar FBN, além de promover o crescimento vegetal como um todo, é bem generalista, porém ainda é necessário ser definido o grau de afinidade entre diferentes estirpes e diferentes genótipos. O objetivo deste trabalho foi verificar a existência de especificidade da relação desse gênero com diferentes híbridos comerciais de milho em um ambiente de alta produtividade. O experimento foi constituído de um fatorial 20x2 com 20 híbridos de milho avaliados com e sem a inoculação de *Azospirillum brasilense* na semente. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com quatro repetições. O desenvolvimento das plantas foi acompanhado, realizando-se medições de crescimento e intensidade de verde nas folhas nos estádios V4, V8 e R3. Foram avaliados também os componentes de produção e produtividade. Além disso, foi quantificado o total de macronutrientes absorvido pelas plantas e exportados pelos grãos, assim como o índice de colheita e eficiência de utilização dos mesmos. Ainda, com as médias dos híbridos foi realizada uma análise da correlação entre caracteres. Não houve efeito da inoculação, exceto para total de nitrogênio exportado pelos grãos e a colonização rizosférica, onde houve interação entre a inoculação e os híbridos. Para as características dos híbridos percebe-se correlação entre a produtividade e a intensidade de verde das folhas no estádio R3, assim como com altura da planta, número de fileiras, massa de mil grãos e eficiência de utilização do P. Não houve correlação entre produtividade e precocidade. Porém a precocidade foi correlacionada com o índice de colheita e com a intensidade de verde das folhas. Não foi possível detectar efeito da inoculação sobre as características agrônômicas do milho nas condições avaliadas.

ABSTRACT

GIEHL, Jeferson, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2017. **Inoculation of *Azospirillum brasilense* in commercial maize hybrids**. Advisor: João Carlos Cardoso Galvão. Co-advisors: Rodrigo Oliveira de Lima and Marliane de Cássia Soares da Silva.

Nitrogen is the most required nutrient and the yield most limiting nutrient in maize. The use of biological nitrogen fixation is an alternative for nitrogen supply to the crops. In the case of maize, bacteria of the genus *Azospirillum* associated to the roots of the plant have been identified. This genus is capable of performing BNF and promotes plant growth as a whole. This genus is very general, but it is still required to define the degree of affinity between different strains and different genotypes. The objective of this study was to verify the existence of specificity on the relation of bacteria of the genus *Azospirillum* with different commercial maize hybrids in a high yield environment. The experiment was performed in a 20x2 factorial scheme with 20 maize hybrids evaluated with and without seed inoculation of *Azospirillum brasilense*. The experimental design was a randomized block with four replications. Plant development was monitored by measuring the growth and leaf green intensity in V4, V8, and R3 stages. The yield and production components were also evaluated. In addition, the total amount of macronutrients absorbed by the plants and exported by the grains, the macronutrients utilization efficiency, and the harvest index were quantified. Analysis of correlation between traits was performed with the means of maize hybrids. There was no effect of the inoculation, except for total nitrogen exported by the grains and the rhizospheric colonization, where there was interaction between the inoculation and maize hybrids. The hybrids traits exhibited a correlation between yield and leaf green intensity at the R3 stage, as well as plant height, ear row number, thousand grain weight, and phosphorus use efficiency. There was no correlation between yield and earliness. However, the earliness was correlated with the harvest index and the leaf green intensity. There was no detectable effect from the inoculation over the maize agronomic traits at the tested condition.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS	3
RESULTADOS E DISCUSSÃO	8
CONCLUSÕES	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21

INTRODUÇÃO

Na safra 2016/2017 estima-se que foram plantados 17,2 milhões de hectares de milho no Brasil, com produtividade média de 5.400 kg ha⁻¹, sendo a cultura de grãos com a segunda maior área plantada (CONAB, 2017). Os nutrientes mais requeridos pelo milho são respectivamente N, K, P, Mg e S (286 kg N, 202 kg K₂O, 114 kg P₂O₅, 59 kg Mg e 26 kg S para uma produtividade de 12 Mg ha⁻¹)(Bender et al., 2013).

O N é o nutriente mais requerido e o mais limitante a produção de milho. Além disso, a fonte mais utilizada de N é a ureia, que apresentam altas perdas por volatilização da amônia (Tasca et al., 2011). Também, esse nutriente apresenta alto custo de produção e é uma possível fonte poluidora para o ambiente (Galloway et al., 2008).

Uma alternativa para o suprimento de N às culturas é a fixação biológica de N (FBN) realizada por bactérias associadas às plantas. Para plantas da família Fabaceae (leguminosas) esse processo é bem conhecido e eficiente. Em cereais também foi comprovada a existência desse processo, porém não possui a mesma eficiência (Baldani & Baldani, 2005).

Na década de 70, Döbereiner et al. (1976) isolaram diversas estirpes de bactérias (não pertencentes ao grupo dos rizóbios) capazes de fixar N associadas com espécies vegetais como gramíneas (*Panicum*, *Brachiaria*, *Pennisetum*, *Digitaria*) e cereais (milho, sorgo, trigo e centeio) de diversas partes do mundo (USA, África e Brasil). Essas bactérias foram encontradas com maior frequência em solos de regiões tropicais. Por fim os autores concluíram que esses organismos estão entre os mais importantes fixadores de nitrogênio nestas regiões. Posteriormente foi caracterizada parte da fisiologia desses organismos (Day & Döbereiner, 1976) e classificados no gênero *Azospirillum* (Tarrand et al., 1978).

Desenvolveram-se muitas linhas de pesquisa quando foi comprovada a existência de bactérias associadas às raízes de gramíneas que tem a capacidade de fixar N atmosférico (Baldani & Baldani, 2005).

No Brasil, o primeiro inoculante a base de *Azospirillum* foi desenvolvido pela EMBRAPA soja em parceria com a iniciativa privada e consiste de uma mistura das estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *Azospirillum brasilense* e autorizada para as culturas de milho e trigo (Hungria et al., 2010). Atualmente várias empresas já oferecem inoculantes com estas estirpes.

Com a inoculação de *Azospirillum* na semente, Hungria et al. (2010) encontraram um incremento de 662-823 kg ha⁻¹ para milho e de 312-423 kg ha⁻¹ para trigo. Enquanto Martins et al. (2016) encontrou aumentos de produtividade de 1151 kg ha⁻¹ com a inoculação. Cassán & Diaz-Zorita (2016) analisaram 47 artigos e relatam sucesso em 70% dos resultados e um incremento médio de 9,5% na produtividade de cereais de verão com a inoculação.

Inicialmente, acreditava-se que *Azospirillum* proporcionava aumentos de produção exclusivamente pela FBN. Porém, a partir de dados experimentais percebeu-se que a quantidade de N fixado em nível de campo é baixa e o N fixado não é prontamente disponibilizado para as plantas. Com isso outros mecanismos começaram a receber maior destaque, sendo que a produção de fitormônios e a alteração na morfologia radicular apresentam o maior número de relatos na literatura (Bashan & Bashan, 2010). Eles propõem que a promoção de crescimento causada pelas bactérias é função de múltiplos mecanismos. Sendo que, promoção de crescimento é evidenciada pelo incremento na emergência de plântulas, vigor, biomassa de plântulas, desenvolvimento do sistema radicular e produção (Kloepper et al., 1989).

Atualmente, *Azospirillum* é o gênero de bactérias promotoras de crescimento mais estudado, após os rizóbios. Porém, ainda há muito a ser estudado em relação à ecologia da interação das plantas com esse gênero. No que tange às plantas, já se entende que são as elas que majoritariamente comandam a interação, podendo moldar o microbioma rizosférico com o intuito de beneficiar microrganismos específicos (Berendsen et al., 2012).

Esse gênero representa um grupo de bactérias promotoras de crescimento bem generalista, que promove crescimento em 113 espécies. Porém, ainda é necessário ser definido o grau de afinidade de diferentes estirpes com diferentes cultivares (Pereg et al., 2016). Walker et al. (2011) relataram a especificidade da relação entre estirpes e cultivares, sendo que a inoculação promoveu crescimento em um dos cultivares e em outro não, além disso houve uma complexa interação entre cultivar e estirpe no perfil de metabólitos secundários da planta.

Há registros sobre as alterações morfológicas causadas nas plantas pela inoculação, como aumento na biomassa e comprimento radicular (El Zemrany et al., 2007), porém, análises de como as características morfológicas e fisiológicas de

diferentes cultivares de milho influenciam a simbiose são escassas. Além disso, é mais frequente a avaliação de várias estirpes em um único cultivar do que o contrário.

Droque et al. (2012) citam o padrão de exsudatos radiculares, propriedades da superfície radicular e sensibilidade da planta aos fitormônios produzidos pelas bactérias como adaptações das plantas à interação. Porém estas características são de difícil mensuração.

Nesse sentido, sugere-se uma abordagem mais simples onde a afinidade é avaliada a partir de diferenças na resposta produtiva da planta à inoculação. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a existência de especificidade da relação das bactérias com diferentes híbridos comerciais de milho em ambiente de alta produtividade.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Coimbra da Universidade Federal de Viçosa, localizada no município de Coimbra-MG. O clima no município é classificado como mesotérmico, com temperaturas médias anuais de 19,4 °C e precipitação média anual de 1.165 mm (Ramos et al., 2009). Na figura 1 constam precipitação e temperatura média registradas pela estação meteorológica mais próxima durante o período de condução do experimento.

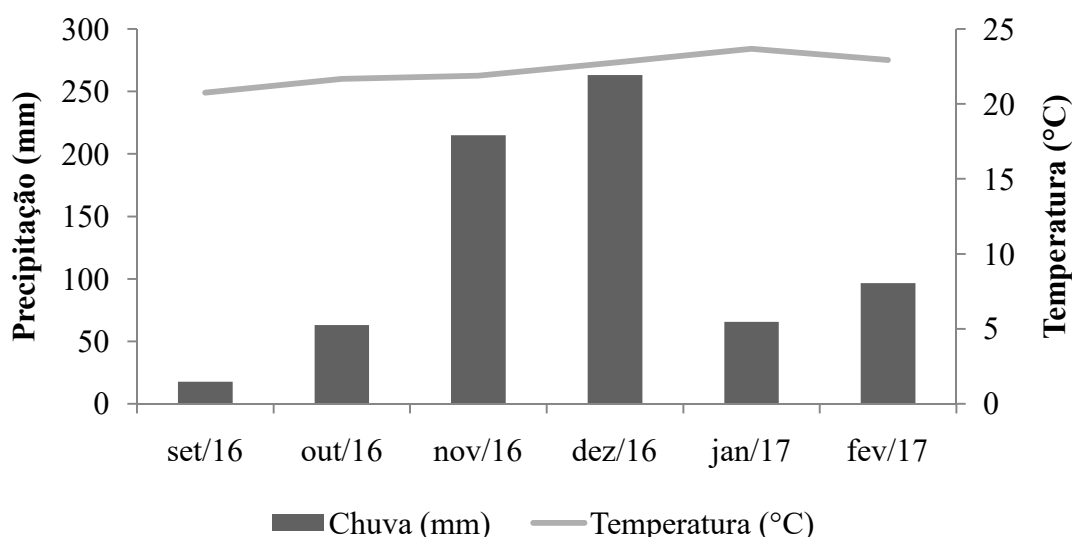


Figura 1. Precipitação acumulada e temperatura média durante a condução de experimento de milho. Coimbra-MG. Safra 2016/2017.

O solo na área é classificado como Argissolo Vermelho Amarelo. A área tem um histórico de cultivo de milho nos anos anteriores, com alta fertilidade e permaneceu com

apenas plantas espontâneas na entre-safra. O resultado da análise de solo (0-20 cm) está apresentado na tabela 1.

Tabela 1. Resultado da análise de solo (0-20 cm). Coimbra-MG. Safra 2016/2017.

pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB
	----- mg dm ⁻³ -----		----- mmol _c dm ⁻³ -----				
6,5	32,3	260	43	14	0	26	64
MO	P-rem	Argila	Zn	Fe	Mn	Cu	B
g kg ⁻¹	mg L ⁻¹	%	----- mg dm ⁻³ -----				
47	21,5	66	4,1	45,1	92,4	2,7	0,3

O experimento foi constituído de um fatorial 20x2 com 20 híbridos de milho avaliados com e sem a inoculação de *Azospirillum brasilense* na semente. O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso com quatro repetições. Os híbridos (tabela 2) utilizados são cultivares comerciais oriundos de diversas empresas fornecedoras, gentilmente doadas ao Programa Milho da UFV e cedidos para a realização deste experimento. As cultivares representam o mercado de sementes, possuindo cultivares de ciclos precoce e superprecoce, híbridos simples, triplo e duplo, e com diversos eventos de transgenia, assim como convencionais.

O tipo de híbrido está relacionado principalmente à maior expressão de heterose, produtividade, homogeneidade, exigência em tecnologia e custo, que é superior em híbridos simples em relação a triplos e duplos, respectivamente. Enquanto isso, híbridos duplos apresentam maior estabilidade e variabilidade genética em relação a triplo e simples (Fritsche-Neto & Môro).

Como inoculante foi utilizado o produto comercial AZOTOTAL na forma turfosa e com 2×10^8 ufc g⁻¹ e as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 da bactéria promotora de crescimento *Azospirillum brasilense*, doado pela empresa TOTAL BIOTECNOLOGIA. A aplicação do inoculante foi através do recobrimento das sementes com 300 g de inoculante para 60.000 sementes, equivalente a 1×10^6 ufc semente⁻¹ e com auxílio de solução açucarada 10%. A inoculação das sementes foi realizada a sombra no período da manhã em sacos de polietileno individualizada por unidade experimental e as sementes permaneceram secando a sombra por 30 min antes do plantio.

Para instalação do experimento foi realizada uma gradagem da área para homogeneizar a superfície e a adubação de plantio foi realizada no sulco com 70 kg ha⁻¹

P₂O₅ e 14 kg ha⁻¹ de N, na forma de MAP. Para adubação de cobertura foram utilizados 70 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia e 60 kg ha⁻¹ de K₂O na forma de KCl, aplicados no estágio de V4. Essa dose de N em cobertura representa 50% da dose recomendada para uma expectativa de 8.000 kg⁻¹ de produtividade.

Tabela 2. Híbridos de milho utilizados em experimento com inoculação de *Azospirillum brasilense* na semente. Coimbra-MG. Safra 2016/2017.

	Híbrido	Tipo ¹	Tipo Grão ²	Ciclo ³	Fornecedor
01	22M12VIP	HS	SDURO	SP	SEMPRE
02	2B610PW	HS	SDENT	P	DOW AGROSCIENCE
03	60XB14	HS	SDURO	P	SEMEALI
04	90XB06BT	HS	DURO	SP	SEMEALI
05	AG8690PRO3	HS	SDENT	P	AGROCERES
06	AS1656PRO3	HS	SDURO	P	AGROESTE
07	BAL280	HS	DURO	P	BALU
08	BG7049YH	HT	SDURO	P	DUPONT
09	BM207	HD	SDURO	P	BIOMATRIX
10	BM812PRO2	HSM	SDENT	P	BIOMATRIX
11	BM915PRO	HS	SDENT	SP	BIOMATRIX
12	BR206	HD	SDENT	P	EMBRAPA
13	CARGO	HD	DURO	P	SYNGENTA
14	DKB290PRO3	HS	DENT	SP	DEKALB
15	DKB390	HS	SDURO	P	DEKALB
16	LG6033PRO2	HS	SDURO	P	LIMAGRAIN
17	LG6304VTPRO	HSM	SDURO	P	LIMAGRAIN
18	RB9004PRO	HS	DENT	P	RIBER
19	SHS7920PRO	HS	DENT	P	SANTA HELENA
20	XB8018	HD	DURO	P	SEMEALI

¹HS: Híbrido simples; HSM: Híbrido simples modificado; HT: Híbrido triplo; HD: Híbrido duplo. ²DURO: grão duro; SDURO: grão semi-duro; SDENT: grão semi-dentado; DENT: grão dentado. ³P: Precoce; SP: super precoce. Eventos de transgenia: VIP: resistente a lepidópteros; PW: lepidópteros, glufosinato de amônia e glifosato; BT: lepidópteros; YH: lepidópteros e glufosinato de amônia; PRO: lepidópteros; PRO 2: lepidópteros e glifosato; PRO 3: lepidópteros, glifosato e *Diabrotica speciosa*.

A unidade experimental foi composta por 4 linhas de milho de 5 m de comprimento e espaçadas em 0,8 m. Para as avaliações foi utilizada uma área útil contendo as 2 linhas centrais desconsiderando 1 m das bordas. A população de plantas utilizada foi de 62.500 plantas ha⁻¹.

A semeadura manual das parcelas foi realizada dia 26 de setembro de 2016. Para evitar contaminação, primeiramente foram semeadas as parcelas sem inoculação e posteriormente as inoculadas. Para controle das plantas daninhas foi utilizada a combinação de atrazine (4 L ha^{-1} de produto comercial “Proof”) e nicosulfuron (400 mL ha^{-1} do produto comercial “Sanson”).

Características avaliadas

Análise de crescimento

Para mensuração da biomassa foi coletada a parte aérea de quatro plantas de milho nos estádios V4 e V8. A matéria seca produzida por planta foi obtida através da secagem das plantas em estufa de circulação forçada a $60\text{-}70 \text{ }^\circ\text{C}$ até atingir massa constante e posterior pesagem.

Altura da planta e diâmetro do colmo foram medidos em quatro plantas por parcela nos estádios V4, V8 e R3. A altura foi medida com auxílio de régua, da base da planta até a inserção da última folha completamente expandida e diâmetro do colmo com auxílio de paquímetro digital, a dois cm do solo ou na altura do primeiro entrenó da planta, dependendo do estádio.

Também foi avaliado o índice SPAD em quatro plantas de cada parcela. Cada planta recebeu três medições no terço médio da última folha completamente expandida nos estádios V4 e V8 e na folha oposta e abaixo da espiga no estádio R3.

Características microbiológicas

Para colonização rizosférica por *Azospirillum*, quatro híbridos (AS1656PRO3, BG7049YH, DKB390, RB9004PRO) foram selecionados, inoculados e não inoculados e duas plantas da parcela foram amostradas. Para a colonização rizosférica foi considerada a população de bactérias contabilizadas a partir do solo rizosférico (solo sob influência das raízes). Uma amostra de 10 g solo peneirado foi colocada para agitar com 90 mL de solução salina por 1 h a 150 rpm . Essa solução foi diluída até 10^{-3} e inoculada em placas de Petri contendo 25 mL de meio sólido NFb (Baldani & Döbereiner, 1980) utilizando o equipamento SpiralPlater (Gilchrist et al., 1973). As placas foram armazenadas em câmara tipo BOD a $28 \text{ }^\circ\text{C}$ e a contagem realizada em lupa após 5 dias (Brasil, 2009).

Características produtivas

Para avaliação de precocidade foi avaliado o ciclo em número de dias da emergência até o florescimento feminino (emissão dos estilo-estigmas em 50% das plantas). Para tempo de emergência foi considerado o valor médio de 7 dias entre a semeadura e a emergência das plantas. Também foram medidos: altura de inserção da primeira espiga, prolificidade, número de fileiras de grãos, número de grãos por fileira, massa de mil grãos (com base em três repetições de 100 grãos), produtividade, biomassa de palha e índice de colheita. Massa de mil grãos e produtividade foram padronizados para 13% de umidade, enquanto as demais avaliações de massa, inclusive índice de colheita, foram baseados em massa seca. A biomassa de palha corresponde a toda biomassa da parte aérea exceto os grãos.

Características nutricionais

Concentração de nutrientes nos grãos e na palhada foram avaliadas com base em quatro plantas colhidas após a maturação fisiológica. Separadamente, grãos e o restante da planta foram triturados e moídos. Foram mensuradas as concentrações dos nutrientes N, P, e K dos grãos e da palha da planta. Para determinação foram utilizadas, para N a digestão sulfúrica e posterior destilação pelo método de Kjeldahl, enquanto que para P e K foi utilizada a digestão nitro-perclórica e leitura por espectrofotometria com azul-de-molibdênio e fotometria de chama, respectivamente, conforme descrito em Silva (2009).

Com base na biomassa e concentração foram calculados os totais de nutrientes absorvidos e exportados pelas plantas. Com base nesses dados foi estimado o índice de colheita (IC) desses nutrientes e a eficiência de utilização (Moll et al., 1982).

$$IC(nutrientes) = \frac{\text{exportado pelos grãos (kg ha}^{-1}\text{)}}{\text{total absorvido pela planta (kg ha}^{-1}\text{)}}$$

$$\text{Eficiência de utilização (kg kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{biomassa de grãos (kg ha}^{-1}\text{)}}{\text{massa de nutriente absorvida (kg ha}^{-1}\text{)}}$$

Eficiência de utilização dos nutrientes representa a biomassa de grãos produzida por unidade de massa de nutriente absorvida.

Os dados foram submetidos à análise de variância a 5 % de probabilidade. Quando significativo o efeito de híbridos foi utilizado o teste de agrupamento de médias de Scott&Knott. Para colonização rizosférica foi realizada transformação dos dados

utilizando $\log(x)$, e o teste de Tukey. Além disso, foi realizada análise da correlação entre caracteres para híbridos. Para as análises o software SAEG 9.1 foi utilizado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo os resultados das análises de variância ($p > 0,05$), não houve efeito da inoculação para nenhuma característica avaliada, exceto para o total de nitrogênio exportado na forma de grãos e a colonização do solo rizosférico onde houve interação entre híbridos e inoculação. Desse modo, percebe-se que não se justifica a inoculação nas condições avaliadas. Já os híbridos apresentam diferenças entre si para as principais características avaliadas.

A análise de variância para colonização rizosférica (tabela 3) demonstrou interação, sendo que o híbrido BG7049YH sem inoculação apresentou a menor população de bactérias, porém quando inoculado apresentou população de bactérias igual aos demais. Porém, esse crescimento da população de bactérias não refletiu em melhoria para nenhuma característica da planta.

Tabela 3. Resumo da análise de variância e estimativas de Unidade Formadora de Colônia g^{-1} de solo rizosférico de bactérias do gênero *Azospirillum*, para quatro híbridos de milho em função da inoculação ou não da semente. Coimbra-MG, safra 2016/2017.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio ¹	
Bloco	3	0,0276	
Híbrido	3	0,0734 ^{ns}	
Inoculação	1	0,0256 ^{ns}	
Híb*Inoc	3	0,4323*	
Resíduo	21	0,0957	

Híbrido	População de bactérias (UFC g^{-1} solo)	
	Sem inoculação	Com inoculação
AS1656PRO3	1,83x10 ⁷ abA ²	0,95x10 ⁷ aA
BG7049YH	0,59x10 ⁷ bB	2,57x10 ⁷ aA
DKB390	1,96x10 ⁷ abA	1,01x10 ⁷ aA
RB9004PRO	2,83x10 ⁷ aA	1,44x10 ⁷ aA
Médias	1,80x10 ⁷	1,49x10 ⁷
C. V. (%)	4,32	

* Significativo a 5% pelo teste F. ^{ns} Não significativo. ¹Dados transformados utilizando a função $\log(x)$. ²Médias seguidas pela mesma letra, minúscula para coluna e maiúscula para linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto ao total de nitrogênio exportado com os grãos (tabela 4), apenas o híbrido DKB290PRO3, o híbrido com a maior produtividade no experimento, exportou 20 kg ha⁻¹ a mais quando inoculado.

Os principais trabalhos que reportam incremento de produtividade com a inoculação são em experimentos com baixa produtividade média, inferiores a 4.000 kg ha⁻¹ (Hungria et al., 2010; Martins et al., 2017). No caso deste experimento há produtividade superior, na ordem de 6.500 kg ha⁻¹.

Além disso, a área apresenta um histórico de cultivo com milho. *Azospirillum* pode colonizar tanto raízes vivas quanto mortas, sendo provável a existência de uma fase saprofítica (Pereg et al., 2016), o que possibilita haver no local uma microbiota bem estabelecida e eficiente, o que resulta em uma alta concentração de bactérias por grama de solo mesmo sem a inoculação. Assim sendo, a introdução de uma nova estirpe pode não ter influenciado nenhuma característica agronômica em função da alta população desse gênero nativa do solo.

Também, o solo apresenta bom pH (6,5) e alto teor de matéria orgânica no solo (4,7%), além de que a lavoura de milho adiciona ao solo alta biomassa de palha (6.744 kg ha⁻¹ ano⁻¹, com um IC de 0,46). E durante a entressafra, plantas espontâneas cresceram na área possibilitando a manutenção de uma biomassa viva cobrindo o solo. Bashan e Vazquez (2000) citam matéria orgânica e a presença de hospedeiros alternativos como características importantes para a sobrevivência de *Azospirillum* no solo. Essas características foram satisfeitas neste experimento, o que endossa a possibilidade de uma alta população nativa do solo para esse gênero.

Desse modo, a inoculação com *Azospirillum* se mostra mais benéfica em ambientes com produtividades reduzidas ou com baixo nível de investimento, ou ainda em locais onde as características não sejam adequadas à sobrevivência do inoculo entre as safras.

Desempenho dos híbridos

Para todas as características avaliadas houve efeito significativo de híbridos, exceto concentração de P e K nos grãos e a eficiência de utilização do N (tabelas 5-10). Nesse sentido, a escolha do híbrido melhor adaptado as condições de investimento e ambientais é mais relevante para locais com maior expectativa de produtividade.

Tabela 4. Resumo da análise de variância e estimativa de N exportado pelos grãos de milho, para 20 híbridos comerciais em função da inoculação ou não de *Azospirillum*. Coimbra-MG, safra 2016/2017.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio	
Bloco	3	665,26	
Híbrido	19	344,48**	
Inoculação	1	21,30 ^{ns}	
Híb*Inoc	19	192,01*	
Resíduo	117	112,47	
N exportado pelos grãos (kg ha ⁻¹)			
		Sem inoculação	Com inoculação
22M12VIP		56,5 aA ¹	50,0 cA
2B610PW		63,9 aA	57,2 cA
60XB14		50,7 bA	47,5 cA
90XB06BT		48,3 bA	50,3 cA
AG8690PRO3		50,6 bA	51,2 cA
AS1656PRO3		65,4 aA	63,8 bA
BAL280		62,8 aA	56,7 cA
BG7049YH		58,3 aA	45,3 cA
BM207		59,3 aA	47,4 cA
BM812PRO2		51,8 bA	61,7 bA
BM915PRO		57,3 aA	53,9 cA
BR206		49,7 bA	45,0 cA
CARGO		53,1 bA	66,1 bA
DKB290PRO3		63,7 aB	84,7 aA
DKB390		56,4 aA	61,1 bA
LG6033PRO2		42,4 bA	56,9 cA
LG6304VTPRO		49,5 bA	50,6 cA
RB9004PRO		65,5 aA	50,9 cA
SHS7920PRO		47,4 bA	55,6 cA
XB8018		43,6 bA	54,8 cA
Média		54,8	55,5
C. V. (%)		19,22	

** Significativo a 1% pelo teste F. * Significativo a 5% pelo teste F. ^{ns} Não significativo

¹Médias seguidas pela mesma letra, minúscula para coluna e maiúscula para linha, não diferem entre si pelo teste de Scott&Knott a 5% de probabilidade.

A produtividade variou de 5.300 a 8.000 kg ha⁻¹ (tabela 5), sendo os híbridos mais produtivos DKB290PRO3, AS1656PRO3 e 2B610PW, produzindo acima de 7.300 kg ha⁻¹. O caractere que mais influenciou a produtividade foi o teor de clorofila nas folhas durante o enchimento de grãos, medido pelo índice SPAD no estágio R3 (tabela 11). O índice SPAD apresenta alta correlação com o teor de clorofila e de N foliar (Xiong, et al., 2015) e tem sido utilizado para o manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho. Assim sendo, o maior teor de clorofila nas folhas durante o enchimento de grãos proporciona maior produtividade.

Os híbridos mais produtivos são híbridos simples, recomendados para condições de alto investimento, e de ciclo superprecoce (DKB290PRO3) e precoce (AS1656PRO3 e 2B610PW). DKB290PRO3 e AS1656PRO3 também estão entre as plantas mais altas, o que tem correlação com a produtividade (tabela 11).

A precocidade (florescimento), não teve correlação com a produtividade, assim como o índice de colheita. Porém estes dois caracteres estão muito correlacionados (tabela 11) e estão relacionados ao processo de melhoramento. Segundo Lee e Tollenaar (2007), o melhoramento genético de milho possibilitou aumento de produtividade através do aumento do índice de área foliar, alterações no uso da energia solar por folhas mais eretas e a manutenção das folhas verdes (fotossinteticamente ativas) por mais tempo (*stay green*).

Para aumentar o índice de área foliar foram selecionados genótipos mais tolerantes ao adensamento (Lee & Tollenaar, 2007). Híbridos mais precoces tendem a ser mais tolerantes ao adensamento tendo demonstrado maior frequência de plantas com duas espigas neste experimento (tabela 6). O ideal é que a densidade de planta possibilite uma espiga bem formada por planta. Assim sendo, utilizando a população de 62.500 plantas ha⁻¹ e uma semeadura “no cedo” como neste experimento, os híbridos mais precoces podem ser igualmente produtivos aos de maior ciclo. Porém, podem ser inclusive mais produtivos se utilizada maior população de plantas e fornecer melhores condições de cultivo como irrigação e maiores doses de N (Lee & Tollenaar, 2007).

Outra característica que influencia a produtividade são os componentes de produção número de fileiras e massa de mil grãos (tabela 6). Aumentos na capacidade da fonte devem ser acompanhados por aumentos na capacidade do dreno. Obter cultivares com maior número de grãos por planta e com grãos maiores é uma estratégia para aumentar a capacidade do dreno (Lee & Tollenaar, 2007).

Tabela 5. Resumo da análise de variância e estimativas de produtividade, biomassa de palha, índice de colheita e índice SPAD para 20 híbridos comerciais de milho. Coimbra-MG, safra 2016/2017.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Produtividade ² (kg ha ⁻¹)	Palha (kg ha ⁻¹)	Índice de Colheita ³	SPAD ⁴
Bloco	3	3597849	819876	0,0028	114,61
Híbrido	19	3185394**	9185326**	0,0125**	94,84**
Inoculação	1	15,57 ^{ns}	2107142 ^{ns}	0,0027 ^{ns}	1,16 ^{ns}
Hib*Inoc	19	987585 ^{ns}	1299715 ^{ns}	0,0013 ^{ns}	22,91 ^{ns}
Resíduo	117	853084	1480019	0,0020	17,55
22M12VIP		6130 c ¹	6161 c	0,46 b	39 b
2B610PW		7310 a	5112 c	0,55 a	46 a
60XB14		6330 c	8475 a	0,40 d	39 b
90XB06BT		5297 c	5124 c	0,48 b	41 b
AG8690PRO3		6168 c	5791 c	0,49 b	33 b
AS1656PRO3		7532 a	7986 a	0,45 c	42 a
BAL280		6668 b	6776 b	0,46 b	37 b
BG7049YH		6181 c	7061 b	0,43 c	38 b
BM207		6243 c	6788 b	0,45 c	38 b
BM812PRO2		6797 b	6039 c	0,50 b	41 b
BM915PRO		6687 b	5503 c	0,52 a	46 a
BR206		5796 c	5585 c	0,48 b	38 b
CARGO		6556 b	6958 b	0,45 c	43 a
DKB290PRO3		7943 a	7377 b	0,48 b	45 a
DKB390		7127 b	6721 b	0,48 b	44 a
LG6033PRO2		6238 c	7276 b	0,43 c	39 b
LG6304VTPRO		5927 c	5921 c	0,46 b	37 b
RB9004PRO		6871 b	8666 a	0,41 d	39 b
SHS7920PRO		6592 b	7683 a	0,43 c	38 b
XB8018		5961 c	7871 a	0,40 d	40 b
Média		6518	6744	0,46	40
C. V. (%)		14,17	18,04	9,65	10,45

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott&Knott a 5% de probabilidade. ² Produtividade corrigida para 13% de umidade. ³ Índice de colheita considerando apenas a parte aérea da planta. ⁴ Índice SPAD medido na folha oposta abaixo da espiga principal no estágio R3. ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. * Significativo a 5% pelo teste F. ^{ns} Não significativo.

Tabela 6. Resumo da análise de variância e estimativas de número de fileiras da espiga, número de grãos por fileira, massa de mil grãos e prolificidade (número de espigas por planta) para 20 híbridos comerciais de milho. Coimbra-MG, safra 2016/2017.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Número de Fileiras	Grãos por Fileira	Massa de mil grãos ² (g)	Prolificidade
Bloco	3	0,0141	21,187	4993,5	0,0133
Híbrido	19	9,0649**	42,813**	6337,5**	0,0088*
Inoculação	1	0,8752 ^{ns}	2,006 ^{ns}	313,3 ^{ns}	0,0003 ^{ns}
Hib*Inoc	19	0,6336 ^{ns}	8,169 ^{ns}	837,0 ^{ns}	0,0059 ^{ns}
Resíduo	117	0,6982	8,752	756,4	0,0052
22M12VIP		17 a ¹	29 c	271 c	1,02 a
2B610PW		15 c	34 a	286 c	0,99 a
60XB14		15 c	32 b	316 b	0,99 a
90XB06BT		13 d	32 b	350 a	1,00 a
AG8690PRO3		15 c	27 c	317 b	1,01 a
AS1656PRO3		15 c	32 b	370 a	1,02 a
BAL280		14 c	29 c	334 b	1,03 a
BG7049YH		14 d	36 a	294 c	0,91 a
BM207		14 d	33 b	289 c	0,98 a
BM812PRO2		14 d	32 b	324 b	0,96 a
BM915PRO		15 c	30 c	318 b	1,04 a
BR206		14 d	34 a	279 c	1,01 a
CARGO		15 c	32 b	277 c	1,02 a
DKB290PRO3		17 a	29 c	350 a	1,04 a
DKB390		15 c	30 c	326 b	1,02 a
LG6033PRO2		15 c	34 a	279 c	1,03 a
LG6304VTPRO		14 d	30 c	326 b	1,01 a
RB9004PRO		16 b	29 c	344 a	0,98 a
SHS7920PRO		14 d	33 b	310 b	1,00 a
XB8018		14 d	32 b	300 c	0,95 a
Média		15	32	313	1,00
C. V. (%)		5,67	9,39	8,79	7,21

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott&Knott a 5% de probabilidade. ²Massa de mil grãos corrigida para 13% de umidade. ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. * Significativo a 5% pelo teste F. ^{ns} Não significativo.

As plantas mais precoces também acumulam biomassa mais rapidamente nos estádios iniciais (tabela 11), o que é uma característica altamente desejável, pois cobrem o solo mais rapidamente. Porém é necessário cuidado ao utilizar híbridos muito precoces em locais com incidência de ventos fortes, pois precocidade também está correlacionada com menor diâmetro de colmo (tabela 11).

Apesar da baixa dose de N aplicada, não houve diferença para eficiência de utilização do nitrogênio entre os híbridos (tabela 8). O alto valor de eficiência de utilização de N observado neste experimento está ligado à baixa dose aplicada e baixa absorção desse nutriente. Além disso, Cavaglia et al. (2014) cita que alto IC e baixa concentração de N no grão beneficiam a alta eficiência de utilização.

No caso do fósforo, os híbridos mais produtivos tiveram maior remobilização do nutriente expresso pelo maior índice de colheita do P e menor concentração do P na palha (tabela 9). Isso possibilita maior eficiência de utilização do P sem reduzir a concentração deste nos grãos. Aumentar a eficiência de utilização do P e não a eficiência de aquisição pode ser benéfico para a produtividade, pois aumentar a eficiência de aquisição geralmente significa aumentar a biomassa particionada nas raízes em detrimento dos órgãos fotossinteticamente ativos (Wiel et al., 2016; Veneklaas et al., 2012).

Fritsche-Neto et al. (2010) relatam correlação entre produtividade e eficiência de utilização de P em ambiente com alta disponibilidade, mas não em ambiente de baixa disponibilidade. Parentoni & Souza Junior (2008), avaliando germoplasma tropical, relatam eficiência de utilização de $273 \text{ kg kg}^{-1} \text{ P}$ e índice de colheita do P de 0,68, enquanto neste trabalho, utilizando híbridos comerciais (que receberam introgressão de germoplasma temperado no processo de melhoramento), a eficiência foi de $218 \text{ kg kg}^{-1} \text{ P}$ e índice de colheita do P de 0,64 (tabela 9).

Já o K é pouco exportado pelos grãos (23 kg ha^{-1} , 22% do total absorvido)(tabela 10). Desse modo não é comum discutir a eficiência de utilização deste nutriente, que é basicamente função do índice de colheita do híbrido (tabela 11).

Tabela 7. Resumo da análise de variância e estimativas de altura de planta, altura de inserção da primeira espiga, diâmetro de colmo e dias entre emergência e florescimento feminino para 20 híbridos comerciais de milho. Coimbra-MG, safra 2016/2017.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Altura da Planta (m)	Altura da Espiga (m)	Diâmetro do Colmo (mm)	Florescimento (dias)
Bloco	3	0,0425	0,0169	18,545	8,973
Híbrido	19	0,1091**	0,0761**	14,049**	91,696**
Inoculação	1	0,0150 ^{ns}	<0,0001 ^{ns}	4,293 ^{ns}	6,006 ^{ns}
Hib*Inoc	19	0,0083 ^{ns}	0,0076 ^{ns}	1,743 ^{ns}	3,151 ^{ns}
Resíduo	117	0,0082	0,0081	2,665	5,858
22M12VIP		1,82 c ¹	1,01 b	17,2 b	70 a
2B610PW		1,91 c	0,96 b	15,7 c	65 c
60XB14		1,96 b	0,99 b	18,2 a	73 a
90XB06BT		1,74 c	0,76 c	16,9 b	62 d
AG8690PRO3		1,97 b	0,94 b	17,5 b	69 b
AS1656PRO3		2,10 a	1,10 a	19,4 a	68 b
BAL280		2,05 a	1,06 a	18,7 a	68 b
BG7049YH		1,91 c	1,00 b	19,2 a	73 a
BM207		1,86 c	0,95 b	19,8 a	73 a
BM812PRO2		1,86 c	0,96 b	19,2 a	68 b
BM915PRO		1,86 c	0,87 c	16,0 c	62 d
BR206		1,75 c	0,83 c	19,0 a	71 a
CARGO		1,82 c	0,96 b	17,5 b	70 b
DKB290PRO3		2,07 a	1,01 b	20,1 a	68 b
DKB390		1,96 b	1,15 a	17,6 b	68 b
LG6033PRO2		1,89 c	0,99 b	16,8 b	68 b
LG6304VTPRO		1,74 c	0,83 c	15,9 c	65 c
RB9004PRO		1,97 b	1,02 b	17,7 b	72 a
SHS7920PRO		2,12 a	1,09 a	19,1 a	72 a
XB8018		2,01 b	1,08 a	17,8 b	72 a
Média		1,92	0,98	18,0	69
C. V. (%)		4,71	9,20	9,09	3,52

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott&Knott a 5% de probabilidade. ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. * Significativo a 5% pelo teste F. ^{ns} Não significativo.

Tabela 8. Resumo da análise de variância e estimativas de concentração de N nos grãos, exportação de N pelos grãos, índice de colheita do N e eficiência de utilização do N para 20 híbridos comerciais de milho. Coimbra-MG, safra 2016/2017.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Concentração N grão (g kg ⁻¹)	Exportação N grão (kg ha ⁻¹)	Índice de Colheita do N	Eficiência de Util. do N (kg kg ⁻¹)
Bloco	3	3,1359	665,26	0,0031	255,32
Híbrido	19	1,9260**	344,48**	0,0090**	81,11 ^{ns}
Inoculação	1	0,2127 ^{ns}	21,30 ^{ns}	0,0005 ^{ns}	16,97 ^{ns}
Hib*Inoc	19	1,0906 ^{ns}	192,01*	0,0022 ^{ns}	25,92 ^{ns}
Resíduo	117	0,8559	112,47	0,0018	51,19
22M12VIP		9,81 b ¹	53 c	0,70 b	72
2B610PW		9,50 b	61 b	0,77 a	81
60XB14		8,90 b	49 c	0,63 b	70
90XB06BT		10,63 a	49 c	0,72 a	69
AG8690PRO3		9,46 b	51 c	0,73 a	77
AS1656PRO3		9,83 b	65 b	0,69 b	71
BAL280		10,27 a	60 b	0,73 a	72
BG7049YH		9,60 b	52 c	0,68 b	72
BM207		9,75 b	53 c	0,69 b	72
BM812PRO2		9,56 b	57 b	0,73 a	76
BM915PRO		9,56 b	56 c	0,72 a	76
BR206		9,35 b	47 c	0,72 a	77
CARGO		10,33 a	60 b	0,72 a	70
DKB290PRO3		10,67 a	74 a	0,75 a	71
DKB390		9,42 b	59 b	0,70 a	75
LG6033PRO2		9,04 a	50 c	0,66 b	74
LG6304VTPRO		9,71 b	50 c	0,71 a	73
RB9004PRO		9,71 b	58 b	0,67 b	70
SHS7920PRO		8,98 b	51 c	0,67 b	75
XB8018		9,40 b	49 c	0,66 b	71
Média		9,67	55	0,70	73
C. V. (%)		9,56	19,22	6,02	9,78

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott&Knott a 5% de probabilidade. ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. * Significativo a 5% pelo teste F. ^{ns} Não significativo.

Tabela 9. Resumo da análise de variância e estimativas de concentração de P nos grãos, exportação de P pelos grãos, índice de colheita do P e eficiência de utilização do P para 20 híbridos comerciais de milho. Coimbra-MG, safra 2016/2017.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Concentração P grão (g kg ⁻¹)	Exportação P grão (kg ha ⁻¹)	Índice de Colheita do P	Eficiência de Util. do P (kg kg ⁻¹)
Bloco	3	0,0667	17,886	0,0823	10231
Híbrido	19	0,1007 ^{ns}	22,592**	0,0200**	2457**
Inoculação	1	0,0834 ^{ns}	4,147 ^{ns}	0,0099 ^{ns}	122 ^{ns}
Hib*Inoc	19	0,0683 ^{ns}	4,663 ^{ns}	0,0071 ^{ns}	1777 ^{ns}
Resíduo	117	0,0855	7,286	0,0073	1271
22M12VIP		3,11	17 b	0,66 a	215 b
2B610PW		3,09	19 a	0,70 a	228 a
60XB14		2,86	16 b	0,55 b	191 b
90XB06BT		3,02	14 b	0,59 b	195 b
AG8690PRO3		3,08	17 b	0,65 a	210 b
AS1656PRO3		2,91	19 a	0,63 b	217 b
BAL280		3,01	17 b	0,63 b	216 b
BG7049YH		3,01	16 b	0,70 a	234 a
BM207		2,78	15 b	0,61 b	218 b
BM812PRO2		2,73	16 b	0,68 a	250 a
BM915PRO		2,83	16 b	0,70 a	249 a
BR206		2,95	15 b	0,64 a	218 b
CARGO		3,03	17 b	0,61 b	208 b
DKB290PRO3		2,95	20 a	0,74 a	252 a
DKB390		2,92	18 a	0,66 a	227 a
LG6033PRO2		2,87	16 b	0,57 b	201 b
LG6304VTPRO		2,80	14 b	0,58 b	210 b
RB9004PRO		2,99	18 a	0,59 b	202 b
SHS7920PRO		2,82	16 b	0,60 b	212 b
XB8018		3,06	16 b	0,62 b	204 b
Média		2,94	17	0,64	218
C. V. (%)		9,94	16,24	13,42	16,36

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott&Knott a 5% de probabilidade. ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. * Significativo a 5% pelo teste F. ^{ns} Não significativo.

Tabela 10. Resumo da análise de variância e estimativas de concentração de K nos grãos, exportação de K pelos grãos, índice de colheita do K e eficiência de utilização do K para 20 híbridos comerciais de milho. Coimbra-MG, safra 2016/2017.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Concentração K grão (g kg ⁻¹)	Exportação K grão (kg ha ⁻¹)	Índice de Colheita do K	Eficiência de Util. do K (kg kg ⁻¹)
Bloco	3	2,6733	87,855	0,0019	158,63
Híbrido	19	0,2686 ^{ns}	58,245**	0,0077**	385,30**
Inoculação	1	0,2918 ^{ns}	9,702 ^{ns}	0,0003 ^{ns}	16,03 ^{ns}
Hib*Inoc	19	0,1018 ^{ns}	16,443 ^{ns}	0,0014 ^{ns}	95,75 ^{ns}
Resíduo	117	0,1650	13,478	0,0016	87,95
22M12VIP		4,00	21 c	0,22 c	54 b
2B610PW		4,10	26 b	0,29 a	70 a
60XB14		3,98	22 c	0,18 c	45 b
90XB06BT		4,02	18 c	0,26 a	65 a
AG8690PRO3		4,19	22 c	0,22 b	54 b
AS1656PRO3		3,88	25 b	0,19 c	50 b
BAL280		4,27	25 b	0,23 b	55 b
BG7049YH		4,17	22 c	0,20 c	48 b
BM207		3,63	20 c	0,18 c	51 b
BM812PRO2		4,02	24 b	0,21 c	52 b
BM915PRO		4,06	24 b	0,27 a	67 a
BR206		4,15	21 c	0,21 c	52 b
CARGO		4,06	23 c	0,21 c	53 b
DKB290PRO3		4,35	30 a	0,23 b	53 b
DKB390		4,29	27 b	0,23 b	54 b
LG6033PRO2		4,27	23 c	0,25 b	59 b
LG6304VTPRO		3,90	20 c	0,21 c	55 b
RB9004PRO		4,10	24 b	0,21 c	51 b
SHS7920PRO		3,75	22 c	0,16 c	42 b
XB8018		4,17	21 c	0,20 c	47 b
Média		4,07	23	0,22	54
C. V. (%)		9,99	15,94	18,15	17,43

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott&Knott a 5% de probabilidade. ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. * Significativo a 5% pelo teste F. ^{ns} Não significativo.

Tabela 11. Estimativas de correlação entre caracteres de 20 híbridos comerciais de milho. Coimbra-MG, safra 2016/2017.

	Produtividade	Florescimento	Índice de colheita (IC)	SPAD (R3)
Produtividade	-	-0,03	0,29 ^{ns}	0,60**
Florescimento	-0,03 ^{ns}	-	-0,69**	-0,44*
IC	0,29 ^{ns}	-0,69**	-	0,47*
SPAD (R3)	0,60**	-0,44*	0,47*	-
AP (V4)	0,38 ^{ns}	-0,59**	0,63**	0,54**
DC (V4)	0,05 ^{ns}	-0,60**	0,44*	0,20 ^{ns}
MS (V4)	0,30 ^{ns}	-0,53**	0,47*	0,37 ^{ns}
SPAD (V4)	-0,05 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,24 ^{ns}
AP (V8)	0,32 ^{ns}	-0,63**	0,46*	0,53**
DC (V8)	0,29 ^{ns}	0,44*	-0,18 ^{ns}	-0,30 ^{ns}
MS (V8)	0,42*	-0,42*	0,35 ^{ns}	0,43*
SPAD (V8)	0,02 ^{ns}	-0,35 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,48*
AP (R3)	0,63**	0,33 ^{ns}	-0,27 ^{ns}	0,05 ^{ns}
AE	0,57**	0,49*	-0,34 ^{ns}	0,11 ^{ns}
DC (R3)	0,27 ^{ns}	0,58**	-0,33 ^{ns}	-0,21 ^{ns}
NFIL	0,55**	0,14 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,31 ^{ns}
GFIL	-0,15 ^{ns}	0,19 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,17 ^{ns}
PALHA	0,30 ^{ns}	0,66**	-0,82**	-0,13 ^{ns}
MMG	0,39*	-0,37 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,12 ^{ns}
Prolificidade	0,24 ^{ns}	-0,48*	0,35 ^{ns}	0,24 ^{ns}
Conc. N palha	0,10 ^{ns}	-0,70**	0,55**	0,51**
Conc. N grãos	0,15 ^{ns}	-0,36 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,27 ^{ns}
ICN	0,29 ^{ns}	-0,57**	0,89**	0,37 ^{ns}
EUtN	0,15 ^{ns}	-0,20 ^{ns}	0,66**	0,10 ^{ns}
Conc. P palha	-0,49**	-0,39*	0,12 ^{ns}	-0,22 ^{ns}
Conc. P grãos	-0,08 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,02 ^{ns}
ICP	0,52**	-0,22 ^{ns}	0,66**	0,51*
EUtP	0,55**	-0,24 ^{ns}	0,61**	0,50*
Conc. K palha	0,30 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,31 ^{ns}	-0,08 ^{ns}
Conc. K grãos	0,21 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,22 ^{ns}
ICK	0,10 ^{ns}	-0,75**	0,72**	0,51*
EUtK	0,02 ^{ns}	-0,82**	0,75**	0,49*

** Significativo a 1% de probabilidade de erro; * Significativo a 5% de probabilidade de erro; ^{ns} Não significativo pelo teste “t”. IC: índice de colheita; SPAD: índice de esverdeamento da folha; AP: altura da planta; DC: diâmetro do colmo; MS: biomassa; AE: altura de inserção da espiga; NFIL: número de fileira de grãos da espiga; GFIL: grãos por fileira; PALHA: Biomassa da parte aérea da planta exceto grãos; MMG: Massa de mil grãos; Conc.: concentração; ICN, ICP e ICK: índice de colheita de N, P e K, respectivamente; EUtN, EUtP e EUtK: eficiência de utilização de N, P e K, respectivamente.

CONCLUSÕES

Não foi possível detectar efeito da inoculação sobre as características agronômicas do milho nas condições avaliadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALDANI, V. L. D.; DÖBEREINER, J. Host-plant specificity in the infection of cereals with *Azospirillum* spp. **Soil Biol. Biochem.**, v. 12, n. 1, p. 433-439, 1980.

BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, n. 3, p. 549-579, 2005.

BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - A critical assessment. **Advances in Agronomy**, v. 108, n. 1, p. 77-136, 2010.

BASHAN, Y.; VAZQUEZ, P. Effect of calcium carbonate, sand, and organic matter levels on mortality of five species of *Azospirillum* in natural and artificial bulk soils. **Biol. Fertil. Soils**, v. 30, n. 1, p. 450-459, 2000.

BENDER, R. R.; HAEGELE, J. W.; RUFFO, M. L.; BELOW, F. E. Nutrient uptake, partitioning, and remobilization in modern, transgenic insect-protected maize hybrids. **Agronomy Journal**, v. 105, n. 1, p. 161-170, 2013.

BERENDSEN, R. L.; PIETERSE, C. M. J.; BAKKER, P. A. H. M. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in plant science**, v. 17, n. 8, p. 478-486, 2012.

BRASIL. Portaria n. 340, de 28 de setembro de 2009. Dispõem sobre os métodos oficiais para análise de inoculantes. 2009.

CASSÁN, F.; DIAZ-ZORITA, M.; *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 103, p. 117-130, 2016.

CAVAGLIA, O. P.; MELCHIORI, R. J. M.; SADRAS, V. O.; Nitrogen utilization efficiency in maize as affected by hybrid and N rate in late-sown crops. **Field Crops Research**, v. 168, p. 27-37, 2014.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: grãos. Monitoramento agrícola – Safra 2016/17. Brasília. v.1, n.3, 2017.

DAY, J.; DÖBEREINER, J. Physiological aspects of N₂-fixation by *Spirillum lipoferrum* from *Digitaria* roots. **Soil Biol Biochem**, v. 8, n. 1, p. 45-50, 1976.

DÖBEREINER, J.; MARRIEL, I. E.; NERY, M. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. **Can J Microbiol**, v. 22, n. 1, p. 1464-1473, 1976.

DROGUE, B.; DORÉ, H.; BORLAND, S.; WINNIEWSKI-DYÉ, F.; PRIGENT-COMBARET, C. Which specificity in cooperation between phytostimulating rhizobacteria and plants? **Research in Microbiology**, v. 163, n. 1, p. 500-510, 2012.

EL ZEMRANY, H.; CZARNES, S.; HALLETT, P. D.; ALAMERCERY, S.; BALLY, R.; MONROZIER, L. J. Early changes in root characteristics of maize (*Zea mays*) following seed inoculation with the PGPR *Azospirillum lipoferum* CRT1. **Plant Soil**, v. 291, n. 1, p. 109-118, 2007.

FRITSCHÉ-NETO, R.; MIRANDA, G. V.; DELIMA, R. O.; SOUZA, L. V.; SILVA, J. Herança de caracteres associados à eficiência de utilização do fósforo em milho. **Pesq. agropec. bras.**, v. 45, n. 5, p. 465-471, 2010.

FRITSCHÉ-NETO, R.; MÔRO, G. V. Cultivares In: BORÉM, A.; GALVÃO, J. C. C.; PIMENTEL, M. A. **Milho: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2015. p. 137-153.

GALLOWAY, J. N.; TOWNSEND, A. R.; ERISMAN, J. W.; BEKUNDA, M.; CAI, Z.; FRENEY, J. R.; MARTINELLI, L. A.; SEITZINGER, S. P.; SUTTON, M. A. Transformation of the nitrogen cycle: Recent trends, questions, and potential solutions. **Science**, v. 320, p. 889-892, 2008.

GILCHRIST, J.E.; CAMPBELL, E.; DONNELLY, C. B.; PEELER, J. T.; DELANEY, J. M. Spiral plate method for bacterial determination. **Applied Microbiology**, v. 25, n. 2, p. 244-252, 1973.

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

KLOEPPER, J. W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R. M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends Biotechnol**, v. 7, n. 1, p. 39-43, 1989.

LEE, E. A.; TOLLENAAR, M. Physiological basis of successful breeding strategies for maize grain yield. **International Plant Breeding Symposium**, 2007.

MARTINS, M. R.; JANTALIA, 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-¹⁵N recovery by maize in a Cerrado Oxisol. **Plant soil**, 2017. doi:10.1007/s11104-017-3193-1.

MOLL, R. H.; KAMPRATH, E. J.; JACKSON, W. A. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. **Agronomy Journal**, v. 74, p. 562-564, 1982.

PARENTONI, S. N.; SOUZA JUNIOR, C. L. Phosphorus acquisition and internal utilization efficiency in tropical maize genotypes. **Pesq. agropec. bras.**, v. 43, n. 7, p. 893-901, 2008.

PEREG, L.; BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plants. **Plant soil**, v. 399, n. 1, p. 389-414, 2016.

RAMOS, A. M.; SANTOS, L. A. R.; FORTES, L. T. G. Normais climatológicas do Brasil, 1961-1990. Brasília, DF: INMET. 2009. 465p.

SILVA, F. C. (Ed.) Manual de análise de solos, plantas e fertilizantes, 2ª ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2009. 627p.

TARRAND, J.; KRIEG, N.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen nov., and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Can J Microbiol**, v. 2, n. 1, p. 967-980, 1978.

TASCA, F. A.; ERNANI, P. R.; ROGERI, D. A.; GATIBONI, L. C.; CASSOL, P. C. Volatilização de amônia do solo após a aplicação de ureia convencional ou com inibidor de urease. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 2, p. 493-502, 2011.

VENEKLAAS, E. J.; LAMBERS, H.; BRAGG, J.; FINNEGAN, P. M.; LOVELOCK, C. E.; PLAXTON, W. C.; PRICE, C. A.; SCHEIBLE, W. R.; SHANE, M. W.; WHITE, P. J.; RAVEN, J. A. Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. **New Phytol**, v. 195, n. 1, p. 306–320, 2012

WALKER, V.; BERTRAND, C.; BELLVERT, F.; MOENNE-LOCCOZ, Y.; BALLY, R.; COMTE, G. Host plant metabolite profiling shows a complex, strain-dependent response of maize to plant growth-promoting rhizobacteria of the genus *Azospirillum*. **New Phytologist**, v. 189, n. 1, p. 494-506, 2011.

WIEL, C. C. M.; LINDEN, C. G.; SCHOLTEN, O. E. Improving phosphorus use efficiency in agriculture: opportunities for breeding. **Euphytica**, v. 207, n. 1, p. 1-22, 2016.

XIONG, D.; CHEN, J.; YU, T.; GAO, W.; LING, X.; LI, Y.; PENG, S.; HUANG, J. SPAD-based leaf nitrogen estimation is impacted by environmental factors and crop leaf characteristics. **Scientific reports**, 2015. doi: 10.1038/srep13389.