

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS - CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL - MPV

LÍGIA MARIA MARASCHI DA SILVA

**DESEMPENHO AGRÔNOMICO DE MILHO EM FUNÇÃO DO
TRATAMENTO DE SEMENTES COM *Azospirillum brasiliense* SOB
DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO MINERAL**

LAGES, SC

2013

LÍGIA MARIA MARASCHI DA SILVA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Ph.D. Luis Sangoi

LAGES-SC

2013

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária
Renata Weingärtner Rosa – CRB 228/14ª Região
(Biblioteca Setorial do CAV/UDESC)

Silva, Lígia Maria Maraschi da
Desempenho agrônomico de milho em função do tratamento de
sementes com *azospirillum brasiliense* sob diferentes doses de
nitrogênio mineral / Lígia Maria Maraschi da Silva; orientador: Luis
Sangoi . – Lages, 2013.
70f.

Inclui referências.

Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias /
UDESC.

1. *Zea mays*. 2. Bactérias fixadoras. 3. Nitrogênio. 4. Desenvolvimento
inicial. I. Título.

CDD – 633.15

LÍGIA MARIA MARASCHI DA SILVA

**DESEMPENHO AGRÔNOMICO DE MILHO EM FUNÇÃO DO
TRATAMENTO DE SEMENTES COM *Azospirillum brasiliense* SOB
DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO MINERAL**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Banca Examinadora:

Ph.D. Luis Sangoi

Orientador – UDESC/Lages-SC

Dr. Ricardo Trezzi Casa

Membro – UDESC/Lages-SC

Dr. Clovis Arruda de Souza

Membro – UDESC/ Lages-SC

Ph.D. Paulo Régis Ferreira da Silva

Membro – UFRGS/ Porto Alegre-RS

Lages, Santa Catarina, 22 de Fevereiro de 2013.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por estar sempre à minha frente e nunca me deixar nada faltar!

À minha família querida que mesmo na distância se fez presente em todos os meus passos. Em especial aos meus avós *Maria* e *Waldomiro Maraschi*, que não me deram a vida, mas me ensinaram a vivê-la.

Ao meu amor, amigo e companheiro de todas as horas Giovani que fez com que essa jornada valesse mais a pena com seu amor e amizade.

Ao meu orientador e “pai” científico, Prof. Luis Sangoi, pela oportunidade de participar deste grupo de pesquisa, pela confiança em mim depositada e por todos os ensinamentos transmitidos nesses dois anos, que me tornaram uma profissional melhor.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal, pelas suas contribuições na transmissão de conhecimentos e auxílio em minha formação profissional e pessoal.

Aos irmãos do grupo “Zea mays”, pelo respeito, amizade e auxílio na realização dos trabalhos desenvolvidos a campo e laboratório.

- Pós-Graduação: Amauri, Paula, Daniele, Jefferson, Gilmar, Murilo Renan, Alexandre, Fernando e Daniel.

- Bolsistas e voluntários da graduação: Willian, Diego, Cristian, Thiago, Gustavo, Geraldo e Leonardo.

Aos amigos e colegas de estudos que colaboraram e compartilharam seus conhecimentos.

À UDESC, pelo ensino público e de qualidade, ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos e ao programa de Pós-Graduação do CAV.

Muito obrigada.

*"Só é digno da liberdade, como da vida,
aquele que se empenha em conquistá-la."*

Johann Goethe

RESUMO

Silva, Lígia Maria Maraschi da. **Desempenho agrônomo de milho em função do tratamento de sementes com *Azospirillum brasiliense* sob diferentes doses de nitrogênio mineral**. 2013. 70 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Áreas: Ciências Agrárias e Agronomia) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2013.

A adubação nitrogenada é um dos fatores que mais influenciam no desempenho agrônomo do milho. A utilização de bactérias promotoras do crescimento de plantas que favoreçam o crescimento inicial e melhorem a utilização do N pode ser uma ferramenta útil para alcançar maiores produtividades. Este trabalho foi conduzido com o intuito de avaliar os efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* sobre o desenvolvimento vegetativo inicial e rendimento de grãos do milho, sob diferentes doses de N mineral, cultivado em dois níveis de manejo. Foram conduzidos dois experimentos, o primeiro em casa de vegetação e o segundo a campo. No trabalho de casa de vegetação utilizou-se um esquema fatorial 2x2x2, testando duas cultivares de milho (a variedade de polinização aberta SCS 155 Catarina e o híbrido simples P30R50), duas doses de nitrogênio (0 e 100 kg de N ha⁻¹) e presença ou ausência de inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Avaliou-se a área foliar, estatura de plantas, teor de clorofila, estágio fenológico e a produção de fitomassa de parte aérea e raízes 28 dias após a semeadura. No ensaio de campo utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso dispostos em parcelas sub-subdivididas. Na parcela principal foram testados dois níveis de manejo: médio e alto. No nível médio semeou-se a variedade de polinização aberta SCS 155 Catarina na densidade de 50.000 pl ha⁻¹. No nível alto utilizou-se o híbrido simples P30R50 na densidade de 90.000 pl ha⁻¹. Nas sub-parcelas testaram-se quatro doses de N em cobertura, equivalentes a 0; 0,5; 1 e 1,5 vezes a dose recomendada para atingir 8.000 kg ha⁻¹ no nível de manejo médio e 18.000 kg ha⁻¹ no nível de manejo alto, perfazendo 0, 65, 130 e 195 kg de N ha⁻¹ para o nível médio e 0, 140, 280 e 420 kg⁻¹ de N ha⁻¹ para o nível alto. Nas sub-subparcelas avaliou-se o efeito da inoculação. No experimento de casa de vegetação, a inoculação com *Azospirillum brasiliense* e a aplicação de nitrogênio mineral não estimularam o desenvolvimento inicial das cultivares e nem interferiram significativamente na sua área foliar, estatura de planta e produção de fitomassa. No experimento de campo, o rendimento de grãos foi maior no nível de manejo alto do que no médio, independentemente da dose de N e da inoculação. O rendimento de grãos aumentou quadraticamente com aumento nas doses de nitrogênio no nível de manejo alto, tanto nas parcelas inoculadas quanto nas não inoculadas. No nível de manejo médio houve incremento linear no rendimento de grãos dos tratamentos inoculados e não houve efeito significativo do N para tratamentos sem inoculação. Não houve diferenças significativas no rendimento de grãos dos tratamentos com ou sem inoculação de *Azospirillum brasiliense*. A inoculação com *Azospirillum brasiliense* não estimulou maior desenvolvimento inicial e nem promoveu incrementos consistentes no rendimento de grãos do milho, independentemente da cultivar ou da dose de N utilizada.

Palavras-chave: *Zea mays*, bactérias fixadoras, nitrogênio, desenvolvimento inicial.

ABSTRACT

Silva, Lígia Maria Maraschi da. **Agronomic performance of maize as affected by the seed treatment with *Azospirillum brasiliense* under different rates of mineral nitrogen.** 2013. 70 f. Dissertation (Mestrado em Produção Vegetal – Áreas: Ciências Agrárias e Agronomia) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2013.

Nitrogen is one of the factors that influence the most maize agronomic performance. The use of plant growth promoting bacteria that enhance N utilization may be a useful tool to improve maize grain yield. This work was carried out aiming to evaluate the effect of inoculating diazotrophic bacteria of the genus *Azospirillum* on the early growth and grain yield of maize, under different rates of mineral N, at two management levels. A green house and a field experiment were set. In the green house experiment, a 2 x 2 x 2 factorial treatment design was used, testing two cultivars (the open pollinated variety SCS 155 Catarina and the single-cross hybrid P30R50), two nitrogen rates (0 e 100 kg N ha⁻¹) and the presence or absence of inoculation with *Azospirillum brasiliense*. Leaf area, plant height, chlorophyll content, growth stage, shoot and root dry mass production 28 days after sowing were determined. A randomized block design arranged in split-split plots was used in the field trial. Two management levels were tested in the main plots: medium and high. The open pollinated variety SCS 155 Catarina, sowed at 50,000 pl ha⁻¹, was used at the medium management level. The single-cross hybrid P30R50, sowed at 90,000 ha⁻¹, was used at the high management level. Four nitrogen rates, equivalent to 0; 0.5; 1.0; and 1.5 times the recommended rate to achieve grain yields of 8,000 kg ha⁻¹ and 18,000 kg ha⁻¹, for the medium and high management levels, were tested in the split-plots, accounting for 0, 65, 130 and 190 kg N ha⁻¹ (medium) and 0, 140, 280 and 420 kg N ha⁻¹ (high), respectively. The inoculation effect was assessed in the split-split plots. In the green house experiment, inoculation with *Azospirillum brasiliense* and fertilization with mineral N did not increase the cultivar's initial development neither interfered significantly in their leaf area, plant height and biomass production. In the field experiment, grain yield was greater at the high management level than at the medium management level, regardless of mineral N rate and inoculation. Grain yield increased quadratically with the increment in N side-dressed rate at the high management level with and without *Azospirillum brasiliense* inoculation. At the medium management level, grain yield increased linearly with the increment in N rate when plants were inoculated and it was not affected by N rate when the inoculation was not performed. There was no significant difference in grain yield between treatments with or without inoculation. The inoculation with *Azospirillum brasiliense* did not improve maize early growth and neither enhanced its grain yield, regardless of cultivar and nitrogen rate.

Key-words: *Zea mays*, fixing bacteria, grain yield, initial development.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Temperatura média (A) e Umidade relativa do ar (B) na casa de vegetação durante o mês de janeiro de 2012, período de condução do experimento de concentração de inóculo. Lages, SC, 2013.....	23
Figura 2 - Área foliar de cultivares de milho aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Híbrido simples com dose zero de nitrogênio (A), híbrido simples com dose 100 de nitrogênio (B), VPA com dose zero de nitrogênio (C) e VPA com dose 100 de nitrogênio (D).....	27
Figura 3 - Balanço hídrico do ano agrícola de 2011/12 segundo metodologia proposta por Thorntwaite & Mather (1955), considerando a capacidade de armazenamento de água no solo de 75 mm. Lages-SC. 1/Conforme escala de desenvolvimento proposta por Ritchie et al. (1993).....	43
Figura 4- Soma térmica mensal em graus-dia do milho no ano agrícola 2011/2012. Lages-SC.	44
Figura 5 - Número de folhas senescidas em plantas de milho em função de doses crescentes de nitrogênio, com e sem inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> , no nível de manejo alto. Lages, 2011/2012.....	45
Figura 6 - Número de folhas senescidas em plantas de milho em função de doses crescentes de nitrogênio, com e sem inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> , no nível de manejo médio. Lages, 2011/2012.....	45
Figura 7 - Altura de plantas e inserção de espiga de milho em função da dose de N aplicada e da inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> no nível de manejo alto (A) e médio (B). Lages, SC, 2011/2012	49
Figura 8 - Rendimento de grãos do milho em função da dose de N aplicada e da inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> no nível de manejo alto. Lages, SC, 2011/2012.	52
Figura 9 - Rendimento de grãos do milho em função da dose de N aplicada e da inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> no nível de manejo médio. Lages, SC, 2011/2012.	52
Figura 10 - Número de grãos de milho por m ² em função da dose de N aplicada e da inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> no nível de manejo alto (A) e médio (B). Lages, SC, 2011/2012.....	54
Figura 11 - Número de grãos de milho por espiga em função da dose de N aplicada e da inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> no nível de manejo alto (A) e médio (B) Lages, SC, 2011/2012.....	55
Figura 12 - Massa de mil grãos de milho em função da dose de N aplicada e da inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> no nível de manejo alto (A) e médio (B) Lages, SC, 2011/2012.	56

Figura 13 - Porcentagem de grãos ardidos de milho em função da dose de N aplicada e da inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> no nível de manejo alto (A) e médio (B). Lages, SC, 2011/2012.....	58
Figura 14 - Eficiência de uso do nitrogênio no milho no nível de manejo alto com e sem <i>Azospirillum brasiliense</i> . Lages, SC, 2011/2012.....	59
Figura 15 - Eficiência de uso do nitrogênio no milho na média do nível de média tecnologia com e sem <i>Azospirillum brasiliense</i> . Lages, SC, 2011/2012.	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características químicas e granulométricas do solo utilizado no experimento na profundidade de 0 – 10 cm.	21
Tabela 2 - Porcentagem de emergência de plântulas de milho em função de cultivar, dose de N e inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> . Lages, SC, 2012.....	24
Tabela 3 - Estádio fenológico do milho, de acordo com escala proposta por Ritchie et al. (1993), aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura em função de cultivar, dose de N e inoculação com <i>A. brasiliense</i> . Lages, SC, 2012.....	25
Tabela 4 - Área Foliar de plantas de milho em função de cultivar, dose de N e inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> . Lages, SC, 2012.....	26
Tabela 5 - Altura de plantas de milho em função de cultivar, dose de N e inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> . Lages, SC, 2012.....	28
Tabela 6-Índice do teor relativo de clorofila de plantas de milho estimado pelo clorofilômetro em função de cultivar, dose de N e inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> . Lages, SC, 2012.....	29
Tabela 7 - Massa seca de parte aérea e raiz de plantas de milho em função da cultivar, dose de N e inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> . Lages, SC, 2012.....	30
Tabela 8 - Temperatura média mensal do ar durante o ano agrícola 2011/2012 e temperatura média entre outubro e abril de 1976 a 2010. Lages-SC.	42
Tabela 9 - Número de folhas senescidas e teor relativo de clorofila de plantas de milho em função do nível de manejo, dose de N e inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> . Lages, SC, 2011/2012.....	46
Tabela 10 - Diâmetro de colmo, porcentagem de plantas de milho sem espigas e com duas espigas em função do nível de manejo, dose de N e inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> . Lages, SC, 2011/2012.	47
Tabela 11 - Altura de planta, de inserção de espiga e porcentagem de plantas de milho acamadas e quebradas em função do nível de manejo, dose de N e inoculação com <i>A. brasiliense</i> . Lages, SC, 2011/2012.	48
Tabela 12 - Rendimento de grãos e componentes de rendimento de milho em função do nível de manejo, dose de N e inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> . Lages, SC, 2011/2012.....	50
Tabela 13 - Porcentagem de grãos ardidos de milho em função do nível de manejo, dose de N e inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> . Lages, SC, 2011/2012.....	57
Tabela 14 - Eficiência do uso de nitrogênio no milho em função do nível de manejo, dose de N e inoculação com <i>Azospirillum brasiliense</i> . Lages, SC, 2011/2012.	60

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 DESENVOLVIMENTO INICIAL DE CULTIVARES DE MILHO NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE INOCULAÇÃO EM TRATAMENTO DE SEMENTES COM <i>Azospirillum brasiliense</i> SOB DOIS NÍVEIS DE N MINERAL.	17
2.1 RESUMO.....	17
2.2 ABSTRACT	18
2.3 INTRODUÇÃO	19
2.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
2.5.1. Temperatura e umidade relativa do ar na casa de vegetação.....	23
2.5.2. Emergência e Estádio Fenológico.....	24
2.5.3. Área Foliar	25
2.5.4. Altura de planta.....	27
2.5.5.Índice do Teor Relativo de Clorofila.....	29
2.5.6. Produção de Fitomassa	30
2.6 Conclusões.....	31
3 CONTRIBUIÇÃO DO TRATAMENTO DE SEMENTES COM <i>Azospirillum brasiliense</i> E DE DOSES DE NITROGÊNIO MINERAL PARA O DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO EM DOIS NÍVEIS DE MANEJO	32
3.1 RESUMO.....	32
3.2 ABSTRACT	33
3.3 INTRODUÇÃO	34
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
3.5.1 Dados meteorológicos	42
3.5.2 Soma térmica	43
3.5.3 Folhas senescidas e índice do teor relativo de clorofila	44
3.5.4 Diâmetro de colmo, plantas sem e com duas espigas	47
3.5.5 Altura de planta, inserção de espiga, plantas quebradas e acamadas	48
3.5.6 Rendimento de grãos e componentes do rendimento.....	49
3.5.7 Percentagem de grãos ardidos.....	56
3.5.8 Eficiência agrônômica de uso do nitrogênio (EUN)	58
3.6 Conclusões.....	60

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

1 INTRODUÇÃO GERAL

O milho é um dos cereais mais antigos do mundo. A teoria mais aceita atualmente sobre sua origem é que ele é oriundo do teosinto. Ambos possuem o mesmo número de cromossomos, os quais são homólogos e se cruzam facilmente, o que resulta em produtos férteis, sendo considerados da mesma espécie com várias subespécies (PATERNIANI e CAMPOS, 1999). Pertence à família *Poaceae*, subfamília *Panicoidea*, gênero *Zea*, espécie *mays* e subespécie *mays* (*Zea mays mays*). É uma espécie alógama onde mais de 95% da fecundação é cruzada. Por isso, seus indivíduos apresentam alto nível de heterozigose.

Sua origem data de 8 a 10 mil anos atrás tendo como centro de origem a América Central. Após a descoberta das Américas, ele foi levado pelos colonizadores e cultivado em todos os continentes, tornando-se assim um dos cereais mais cultivados no mundo e assumindo grande importância na cadeia alimentícia.

Ao longo do tempo, o homem promoveu uma crescente domesticação do milho por meio da seleção visual no campo, considerando importantes características, tais como produtividade, resistência a doenças e capacidade de adaptação, dentre outras, dando origem às variedades hoje conhecidas.

Atualmente, o milho é o cereal mais produzido no mundo, devido a sua alta produtividade e, principalmente, a sua ampla utilização. Além da sua relevância econômica como principal componente na alimentação de aves, suínos e bovinos, o milho cumpre papel técnico importante para a viabilidade de outras culturas, como a soja e o algodão, por meio da rotação de culturas, dando sustentabilidade para diferentes sistemas de produção em muitas regiões agrícolas. Ele também tem um papel social importante, principalmente na subsistência de muitos pequenos agricultores.

Segundo o cientista Lawrence Johnson, da Universidade Estadual de Iowa, quase tudo que pode ser feito com o petróleo também pode ser feito com o milho (RURAL, 2012). O milho é utilizado no consumo humano e animal, porém através dele existe a possibilidade de se fazer a maioria dos químicos oriundos do petróleo, como o etanol.

Na alimentação humana, as formas mais utilizadas de consumo são “in natura”, como milho verde ou beneficiado, formando diversos tipos de farinha. Na alimentação animal, os grãos são utilizados como principal componente de rações para aves e suínos. Na região sul do Brasil, o milho é utilizado como fonte de alimento para bovinos no inverno, pois se trata de um período em que há redução na oferta de pastagens. Como ele oferece grande

produção de massa seca e boa fonte de energia, é armazenado tanto na forma de silagem (planta inteira triturada), como grão úmido para servir de alimento nesse período.

A produção mundial de milho no ano agrícola 2011/12 foi de 873 milhões de toneladas e está projetada para 2012/2013 em 950 milhões de toneladas (USDA, 2012). Nos EUA, a produção de etanol cresceu muito na última década. No ano de 2004/05, 34 milhões de toneladas de grãos de milho eram destinadas para produção de etanol, enquanto em 2008/09 este número alcançou 94 milhões de toneladas. Já em 2009/10 esse número chegou a 117 milhões de toneladas e em 2010/11 atingiu 127 milhões de toneladas. Esta quantidade está se confirmando em 2011/12 e também sendo prevista para o ano agrícola 2012/13 (USDA, 2012). Este fato mostra que parte da produção americana, que representa cerca de 15% da produção mundial, continuará sendo destinada ao etanol, mantendo assim a elevada demanda por este cereal a nível mundial.

O Brasil é o terceiro maior produtor de milho do mundo, ficando atrás dos Estados Unidos e China (USDA, 2012). No ano agrícola 2010/11, o Brasil produziu 57,4 milhões de toneladas de milho (CONAB, 2012a) numa área de 13,8 milhões de hectares. Apesar de ser um dos grandes produtores mundiais, a produtividade média brasileira está em $4,5 \text{ t ha}^{-1}$ com grande variação entre as regiões produtoras no país (CONAB, 2012b). Quando comparada à produtividade média dos Estados Unidos no último ano agrícola, que foi de aproximadamente 10 t ha^{-1} (USDA, 2012), e com produtividades alcançadas em condições experimentais de alto manejo, como às utilizadas Schmitt et al. (2011), que conseguiram produtividades superiores a 18 t ha^{-1} , pode-se inferir que o Brasil pode aumentar bastante seu rendimento por área.

O Estado de Santa Catarina é o sétimo produtor de milho a nível nacional, sendo que sua produção no ano agrícola 2011/12 foi de 3,0 milhões de toneladas. A produção de milho de Santa Catarina não atende a demanda oriunda principalmente pelos setores de aves e suínos. Em 2009/10, a oferta de milho foi de 3,7 milhões de toneladas, sendo que a demanda para o mesmo ano agrícola foi de 5,4 milhões de toneladas. O déficit catarinense anual na produção de milho superou 1,7 milhões de toneladas no ano 2009/2010 (CEPA, 2012).

A grande lacuna existente entre o rendimento médio obtido em lavouras e o que é verificado sob condições de alto manejo pode ser atribuída a várias causas, como o uso de genótipos com baixo potencial de rendimento de grãos ou não adaptados à região de cultivo, épocas de semeadura impróprias, escolha inadequada de arranjos de plantas e aplicação de baixas doses de fertilizantes, principalmente os nitrogenados (SANGOI et al, 2010).

Dos recursos demandados na cultura do milho, a adubação é um dos que mais oneram o custo de produção. De acordo com Silva et al. (2005), o nitrogênio é o nutriente mineral extraído em maior quantidade pelo milho, aquele que exerce maior influência na produtividade de grãos e também o que mais onera o custo de produção. Ele é fundamental para o estabelecimento e duração da área foliar, bem como para a formação das espigas, interferindo tanto na magnitude da fonte produtora de fotoassimilados quanto na força do dreno que irá recebê-los.

Uma nutrição adequada favorece a produção da cultura. O milho remove grandes quantidades de nitrogênio e requer o uso de adubação nitrogenada em cobertura para complementar a quantidade suprida pelo solo, quando se desejam produtividades elevadas. A recomendação da adubação nitrogenada em cobertura para a cultura do milho de sequeiro varia de 40 a 80 kg de N ha⁻¹. Porém, em sistemas de elevado nível tecnológico, onde se faz uso de irrigação para a obtenção de elevadas produtividades, essa recomendação é insuficiente. Nessas condições, doses de nitrogênio variando de 100 a 250 kg ha⁻¹ podem ser necessárias para a obtenção de elevadas produtividades (COELHO, 2000). Por este motivo, o adubo nitrogenado é o que mais onera o custo da adubação, chegando a representar cerca de 40% do custo total de produção da cultura do milho (REIS-JÚNIOR, 2008).

Além da necessidade de reduzir custos com adubação nitrogenada, também é crescente a preocupação com a poluição dos recursos hídricos e da atmosfera causados pelo uso inadequado de fertilizantes nitrogenados, em virtude deste nutriente estar sujeito a perdas por erosão, lixiviação, volatilização e desnitrificação (PANG et al., 1997; LARA CABEZAS et al., 2000).

Outra preocupação recorrente é o elevado custo energético para a obtenção dos fertilizantes nitrogenados minerais, pois são produzidos a partir de combustíveis fósseis não renováveis. A utilização de fertilizantes minerais também intensifica as emissões de N₂O na atmosfera. O N₂O é um dos gases do efeito estufa, sendo liberado através das reações de nitrificação e desnitrificação. Tanto as condições físicas do solo, como a disponibilidade de substrato para nitrificação e desnitrificação e atividade microbiana, são afetadas pelas práticas de manejo de solo como sistemas de preparo de solo e adubação química nitrogenada.

O impacto da adição de fertilizantes nitrogenados em demasia no solo interfere na sustentabilidade dos sistemas produtivos, tanto ambientalmente como economicamente, já que 70% dos fertilizantes nitrogenados utilizados no Brasil necessitam ser importados, encarecendo-os ainda mais para o produtor (MARIANO et al, 2011).

A identificação de estratégias de manejo da lavoura que possam atender a demanda nitrogenada do milho, com baixo custo de produção e limitado impacto ambiental, torna-se cada vez mais importante para aumentar a margem bruta do produtor, preservar o ambiente e garantir segurança alimentar para a população mundial em crescimento cada vez mais acelerado.

Atualmente, a utilização de sistemas produtivos mais conservacionistas, como o sistema de semeadura direta, associado à recomendação de rotação de culturas e adubação verde, vem sendo almejada por técnicos e pesquisadores.

Entre as alternativas na busca de sistemas sustentáveis de produção de milho, destaca-se o uso de bactérias diazotróficas, capazes de fixar nitrogênio biologicamente. Algumas plantas podem formar associações com estas bactérias e obter N por meio da fixação biológica. Várias bactérias diazotróficas foram isoladas da cultura de milho, destacando-se as espécies *Azospirillum lipoferum*, *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*, sendo as espécies mais estudadas as do gênero *Azospirillum* (REIS et al., 2000).

As bactérias do gênero *Azospirillum* podem se associar endofiticamente a várias espécies de gramíneas e são capazes de auxiliar no seu crescimento e desenvolvimento pela disponibilização de nutrientes pela fixação biológica do nitrogênio atmosférico.

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é o processo realizado por bactérias diazotróficas que convertem N_2 atmosférico em NH_3 assimilável pelas plantas. Este N pode ser transferido diretamente para as plantas ou ser liberado com a morte das bactérias, contribuindo para o suprimento de N de plantas capazes de formar associações com as mesmas.

As bactérias diazotróficas possuem um complexo enzimático chamado nitrogenase, responsável pela redução do N_2 atmosférico através da quebra da ligação tríplice do N. Após a reação de redução, a amônia é rapidamente convertida a NH_4^+ que ao ser transportado para fora da célula bacteriana, é assimilado pela célula vegetal sob a forma de glutamina. A enzima nitrogenase é uma molibdênio ferro proteína que hidrolisa 16 adenosinas trifosfatos (ATP) e transfere 8 elétrons por molécula de N fixado. Este processo metabólico é o de maior demanda energética para a célula. Na ausência de molibdênio, o mesmo pode ser substituído por vanádio ou ferro. Devido ao alto custo energético da FBN, alguns fatores regulam a atividade da nitrogenase. Entre eles merecem destaque a concentração de O_2 , disponibilidade energética da célula, idade fisiológica (RODRIGUES et al., 2006), disponibilidade de N, principalmente na forma de amônio (PRAKAMHANG et al., 2009).

Desta forma, as bactérias diazotróficas podem ampliar a absorção de nitrogênio pela planta, reduzindo a quantidade de adubo mineral a ser aplicado. Além disto, atuam estimulando o crescimento vegetal, gerando aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas (CASSÁN et al., 2008). Também auxiliam na produção de hormônios como auxinas, citocininas (TIEN et al., 1979), giberelinas (BOTTINI et al., 1989), etileno (STRZELCZYK et al., 1994) e podem atuar como agente de controle biológico de patógenos (CORREA et al., 2008). Em geral, acredita-se que as bactérias promotoras de crescimento beneficiam o crescimento das plantas por uma combinação de todos esses mecanismos (DOBBELAERE et al., 2003).

A interação positiva entre as bactérias diazotróficas e o milho tem sido demonstrada por vários autores. Embora ainda não seja prática agrícola consolidada, levantamentos de diversos experimentos realizados em vários países mostram que a inoculação com *Azospirillum* resultou, em muitos casos, no aumento da produção de massa seca, da produção de grãos e do acúmulo de N nas plantas inoculadas.

Este trabalho foi concebido com base em duas hipóteses: a) a inoculação com *Azospirillum* pode ser uma forma viável de substituição de parte da adubação nitrogenada para produtores com baixa capacidade de investimento; b) a inoculação com *Azospirillum* pode ser uma ferramenta útil para o aumento de produtividade, complementando a fertilização nitrogenada mineral, nos sistemas de alto manejo. Assim, o trabalho objetivou avaliar os efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum brasiliense* em tratamento de sementes sobre o crescimento, desenvolvimento vegetativo e rendimento de grãos do milho, sob diferentes doses de N mineral, cultivado em dois níveis de manejo.

2 DESENVOLVIMENTO INICIAL DE CULTIVARES DE MILHO NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE INOCULAÇÃO EM TRATAMENTO DE SEMENTES COM *Azospirillum brasiliense* SOB DOIS NÍVEIS DE N MINERAL.

2.1 RESUMO

O maior crescimento inicial pode incrementar o aproveitamento da radiação solar disponível nas primeiras etapas do ciclo do milho. Quanto mais rapidamente ocorrer a emergência e o estabelecimento da cultura, menor será o tempo de exposição das sementes a pragas e patógenos de solo. Além disso, estabelecimento rápido e uniforme do estande reduz o período crítico de competição com plantas daninhas. A utilização de organismos que favoreçam o crescimento inicial de plantas também pode ser uma ferramenta útil para alcançar maiores produtividades. As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) podem ser uma alternativa, destacando-se o gênero *Azospirillum*. Em função disto conduziu-se este trabalho, objetivando avaliar a influência da inoculação no desenvolvimento inicial de duas cultivares de milho, sob dois níveis de nitrogênio mineral. Utilizou-se um esquema fatorial 2x2x2 com três repetições; duas cultivares de milho (a variedade de polinização aberta SCS 155 Catarina e o híbrido simples P30R50), duas doses de nitrogênio (0 e 100 kg N ha⁻¹) e presença ou ausência de inoculação com *Azospirillum brasiliense*. O experimento foi conduzido em casa de vegetação. Avaliou-se a área foliar, estatura de plantas, teor de clorofila e estágio fenológico aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Aos 28 dias após a semeadura, quando as plantas estavam em V5-V6 efetuou-se a colheita, separando parte aérea e raiz que foram levadas a estufa e posteriormente pesadas para determinação de massa seca. A inoculação com *Azospirillum brasiliense* e a aplicação de nitrogênio mineral não estimularam o desenvolvimento inicial das cultivares e nem interferiram significativamente na sua área foliar, estatura de planta e produção de fitomassa. A VPA SCS 155 Catarina apresentou maior velocidade de desenvolvimento inicial do que o híbrido simples P30R50, produzindo maior área foliar, plantas mais altas e maior massa seca de raízes.

Palavras-chave: crescimento, nitrogênio, área foliar , bactérias diazotróficas.

2.2 ABSTRACT

MAIZE CULTIVARS EARLY GROWTH IN THE PRESENCE AND ABSENCE OF SEED INOCULATION WITH *Azospirillum brasiliense* UNDER TWO LEVELS OF MINERAL N.

The higher initial growth can increase the use of solar radiation in the beginning of maize cycle. The fast emergence and establishment of maize decreases seed exposure time to soil pests and pathogens. Additionally, the rapid and uniform stand establishment reduces the critical period of competition with weeds. The use of organisms that enhance maize initial growth can also be a useful tool to achieve higher yields. The bacteria that promote plant growth (BPCP), such as *Azospirillum*, may be an alternative to accomplish this goal. This work was carried out aiming to evaluate the influence of inoculation on the early development of two maize cultivars with and without mineral nitrogen application. A 2x2x2 factorial design with three replications was used, testing two cultivars (the open-pollinated variety SCS 155 Catarina and the single-cross hybrid P30R50), two nitrogen levels (0 and 100 kg N ha⁻¹) and presence or absence of inoculation with *Azospirillum brasiliense*. The experiment was conducted in a greenhouse. Leaf area, plant height, chlorophyll content and phenological stage at 7, 14, 21 and 28 days after sowing were evaluated. Harvest was performed 28 days after sowing. Shoots and roots were separated and dried to assess plant dry mass production. Inoculation with *Azospirillum brasiliense* and fertilization with mineral N did not increase the cultivar's initial development neither interfered significantly in their leaf area, plant height and biomass production. The VPA SCS 155 Catarina showed a higher rate of early development than the single cross hybrid P30R50, producing greater leaf area, taller plants and higher root dry mass.

Key-words: growth, nitrogen, leaf area, diazotrophic bacteria.

2.3 INTRODUÇÃO

O maior crescimento inicial pode incrementar o aproveitamento da radiação solar disponível no início do ciclo do milho, aumentando a disponibilidade de carboidratos para a diferenciação de um maior número de espigas por planta.

No período semeadura-emergência, o desenvolvimento das plântulas pode ser limitado por deficiência hídrica, compactação do solo, temperatura baixa, fitotoxicidade de herbicidas, além de ataques de pragas e patógenos. Quanto mais rapidamente ocorrer a emergência e estabelecimento da cultura, menor será o tempo de exposição das sementes à pragas e patógenos de solo. Isto é importante para garantir o número de plantas almejado, que interferirá diretamente no número de espigas produzidas por área, o primeiro componente do rendimento de grãos (SANGOI, et al 2010). Além disto, o estabelecimento rápido e uniforme do estande reduz o período crítico de competição com plantas daninhas.

Os trabalhos conduzidos por Rocher et al. (1989), Rood et al. (1990) e Causse et al. (1995) reforçam a hipótese de que o crescimento inicial é uma característica importante para a capacidade produtiva das plantas, estando correlacionado com algumas enzimas chaves no processo de fixação e distribuição dos fotoassimilados na planta.

A germinação e emergência rápida e uniforme são duas características importantes para alcançar altos rendimentos de grãos com a cultura do milho, em função da baixa capacidade de compensação de espaços desta espécie e da sua alta eficiência de conversão da energia luminosa em energia química (TOLLENAAR & WU, 1999). A definição do estande final da lavoura é afetada pela interação de diversos fatores e pode ser garantida através de medidas preventivas, tais como o tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas. A utilização de organismos que favoreçam o crescimento inicial de plantas também pode ser uma ferramenta útil para alcançar maiores produtividades.

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) correspondem a um grupo de microrganismos benéficos às plantas devido à capacidade de colonizar a superfície de suas raízes, rizosfera e tecidos internos (DAVISON, 1988; KLOPPER et al., 1989).

As bactérias que colonizam a rizosfera apresentam mecanismos de ação direta e indireta na promoção do crescimento vegetal (OLIVEIRA et al., 2003). Dentre os mecanismos de ação direta pode-se citar a capacidade de fixação biológica de nitrogênio, aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas, produção de fitohormônios como auxinas, citocininas, giberelinas, etileno, solubilização de

fosfato. Indiretamente, elas atuam nos mecanismos de indução de resistência sistêmica das plantas, antagonismo a patógenos, aumento da resistência das plantas a situações de estresse e produção de antibióticos (CATTELAN & HARTEL, 2000).

Elas podem também promover aumento da área de absorção radicular, melhoria dos parâmetros fotossintéticos das folhas, tais como o teor de clorofila e condutância estomática, maior teor de prolina na parte aérea e raízes, melhoria no potencial hídrico, incremento no teor de água do apoplasto, maior elasticidade da parede celular, maior altura de planta e maior produção de biomassa (BARASSI et al., 2008).

Estima-se que a inoculação com estas bactérias promova maior crescimento inicial das plantas por uma combinação de todos esses mecanismos (DOBBELAERE et al., 2003). Vários trabalhos têm demonstrado resultados eficientes da inoculação de BPCP em gramíneas, destacando-se o gênero *Azospirillum*, que apresenta capacidade de induzir respostas à planta em melhorar o aproveitamento dos recursos disponíveis no ambiente (BERGAMASCHI et al., 2006).

Gonçalves et al. (2012) constataram que plantas de milho inoculadas com *A.brasilense* se recuperaram de estresse hídrico mais rapidamente quando comparadas com as que não foram inoculadas, evidenciando que a bactéria contribuiu positivamente para que a planta pudesse elevar o seu conteúdo relativo de água na folha com mais eficiência, gastando menos tempo e menos energia.

A partir de trabalhos realizados com plantas de milho inoculadas *Azospirillum* sp Ribaud et al. (2001) reportaram que plantas de milho inoculadas apresentaram maior concentração de N nas folhas, raízes mais longas, maior estatura de planta e maior produção de biomassa duas a três semanas após a semeadura. Doebelaere et al. (2003) também verificou que a inoculação com *Azospirillum* promoveu uma antecipação no crescimento de parte aérea e das raízes de plantas de milho e trigo sob fertilização moderada de nitrogênio.

Corroborando com esses resultados, Diaz-Zorita (2012) constatou que o tratamento biológico das sementes com bactérias diazotróficas traz uma contribuição importante para o crescimento vegetativo das plantas. O autor cita ainda que esta contribuição foi menor durante o período de enchimento de grãos.

Apesar de muitos benefícios já terem sido reportados na literatura, a utilização de inoculação com *Azospirillum* não é uma prática agrícola consolidada e muitas dúvidas ainda surgem a este respeito. Em função disto conduziu-se este trabalho, objetivando avaliar a influência da inoculação no desenvolvimento inicial de duas cultivares de milho com e sem a aplicação de nitrogênio mineral.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no município de Lages, SC. Foram utilizados 24 baldes plásticos com 5 kg de solo. Cada balde foi considerado uma unidade experimental. O solo utilizado é classificado como NITOSSOLO VERMELHO Distrófico típico (EMBRAPA, 2006). Ele foi coletado do Distrito de Santa Terezinha do Salto, pertencente ao município de Lages. Os resultados da análise química do solo realizada em 2010 podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1. Características químicas e granulométricas do solo utilizado no experimento na profundidade de 0 – 10 cm.

pH H ₂ O	P mg dm ⁻³	M.O. g kg ⁻¹	Ca -----cmol _c dm ⁻³ -----	K	Mg -----cmol _c dm ⁻³ -----	Al	CTC
5,6	5	50,0	6,0	0,5	2,8	0,3	15,3
Análise granulométrica							
Argila							
-----g kg ⁻¹ -----							
420							

Os tratamentos do experimento foram os seguintes: duas cultivares de milho (o híbrido simples P30R50H e a variedade de polinização aberta SCS 155 Catarina); duas doses nitrogênio mineral (0 e 100 kg ha⁻¹) e duas doses de inoculação com a bactéria diazotrófica *Azospirillum*, produto comercial Masterfix Gramíneas[®] (0 e 100 mL para 20 kg de sementes). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado arranjado num esquema fatorial 2 x 2 x 2 com três repetições por tratamento.

A semeadura foi realizada no dia 13/01/2012. O solo foi mantido na capacidade de campo por ocasião da semeadura e durante todo o período do experimento. A capacidade de campo foi determinada pesando o solo seco e inundando-o com 1,5 kg de água. O solo foi pesado todos os dias até apresentar estabilidade e pouca variação de peso, demonstrando então que para que atingisse a capacidade de campo era necessário acrescentar 500 g de água. Portanto no decorrer do experimento o solo foi monitorado, pesado diariamente e irrigado quando necessário.

A adubação foi determinada proporcionalmente à área de cada balde e realizada algumas horas antes da semeadura, incorporando os fertilizantes nitrogenados, fosfatados e no solo. Foram aplicados 100 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 100 kg ha⁻¹ de K₂O para todos os tratamentos. As fontes de N, P e K foram uréia, super-fosfato triplo e cloreto de potássio. As sementes foram inoculadas com *Azospirillum brasiliense* dez minutos antes da semeadura. A dose foi

calculada proporcionalmente, a inoculação foi realizada em béquer adicionando 2,5 mL de inoculante nos tratamentos com *A. brasiliense*. Não houve tratamento químico com fungicidas e inseticidas das sementes utilizadas. Foram semeadas oito sementes por balde.

A partir do terceiro dia após a semeadura estimou-se a percentagem de plantas emergidas por unidade experimental, contando-se o número de plântulas com o coleóptilo visível acima da superfície do solo e confrontando este valor com o número de sementes semeadas em cada balde. Esta avaliação foi feita até que mais de 90% das sementes estivessem emergidas. Logo após a emergência de todas as plantas foi realizado desbaste deixando quatro plantas por balde.

Foram avaliadas aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura as seguintes variáveis: altura de plantas, estágio fenológico, área foliar e teor de clorofila. A estatura da planta foi estimada medindo-se a distância do solo até a extremidade da última folha visível da planta dentro do cartucho.

Para estimativa do teor relativo de clorofila foi utilizado o clorofilômetro SPAD 502 Plus, marca Minolta utilizando sempre a média de seis amostras da última folha expandida. A área foliar foi obtida utilizando a metodologia descrita por Tollenaar (1992). Mediu-se com uma régua o comprimento (C) e a maior largura (L) de todas as folhas fotossinteticamente ativas, com pelo menos 50% de área foliar verde, de acordo com critério utilizado por Borrás et al. (2003). A área foliar (A), expressa em cm², foi estimada utilizando-se a expressão: $A = C \times L \times 0,75$; onde 0,75 é um coeficiente de correção.

O estágio fenológico foi avaliado conforme escala proposta por Ritchie et al. (1993). Segundo esta escala, os estádios vegetativos são identificados pela letra V e por um número que varia de 1 a n. Este número indica o número de folhas completamente expandidas apresentado pela planta. A folha foi considerada expandida quando ela apresentava a região do colar, que separa a bainha da lâmina foliar, totalmente visível.

Aos 28 dias após a semeadura, quando as plantas começaram a ter seu crescimento limitado devido à falta de espaço no balde, efetuou-se a colheita da parte aérea. Nesta ocasião, a parte aérea e as raízes foram lavadas e acondicionadas em sacos de papel. Elas foram levadas separadamente à estufa para secagem, onde foram deixadas por sete dias a 60°C até atingir massa constante. Posteriormente foram pesadas para determinação da massa seca de parte aérea e raízes.

Os dados foram submetidos à análise de variância a 5% ($p < 0,05$) de significância. Quando atingida significância estatística pelo teste F, as médias foram submetidas ao Teste de Tukey, também a 5% de significância.

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.5.1. Temperatura e umidade relativa do ar na casa de vegetação

A Figura 1 apresenta a variação da temperatura média do ar e a umidade relativa do ar dentro da casa de vegetação durante período de 21 dias, os quais corresponderam a parte do período em que foi conduzido o experimento. A partir da análise dos gráficos, é perceptível que não há muita variação de temperatura e umidade relativa do ar dentro da casa de vegetação. A variação da temperatura foi de 22,7 °C a 24,4 °C (Figura 1A) e 73 a 84% de umidade relativa do ar (Figura 1B).

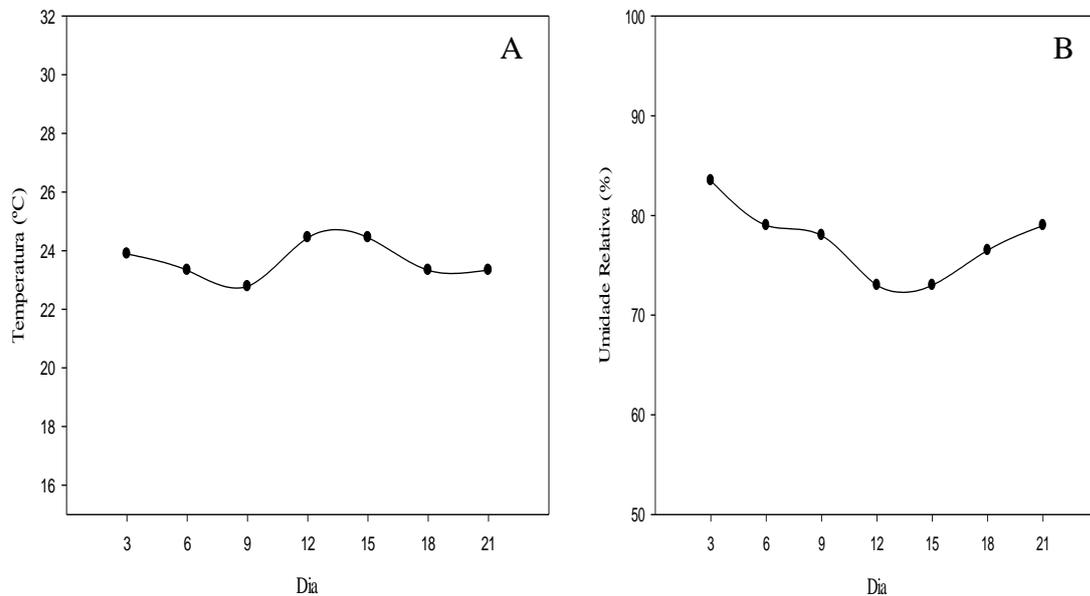


Figura 1. Temperatura média (A) e Umidade relativa do ar (B) na casa de vegetação durante o mês de janeiro de 2012, período de condução do experimento de concentração de inóculo. Lages, SC, 2013.

2.5.2. Emergência e Estádio Fenológico

A emergência de plântulas iniciou no quarto dia após a semeadura e terminou no sexto dia após a semeadura quando todas as plântulas do experimento encontravam-se emergidas. O HS apresentou maior percentagem de plântulas emergidas do que a VPA nas avaliações feitas quatro e cinco dias após a semeadura (Tabela 2). Não houve efeito significativo da aplicação de nitrogênio mineral e da inoculação com *Azospirillum brasiliense* sobre a percentagem de plântulas emergidas.

Tabela 2 - Percentagem de emergência de plântulas de milho em função de cultivar, dose de N e inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Lages, SC, 2012.

Cultivar	Dose N	Azospirillum	Emergência (%)	
			4 DAS	5 DAS
VPA	0	SEM	45	87
		COM	50	100
	100	SEM	41	87
		COM	37	95
HS	0	SEM	95	100
		COM	100	100
	100	SEM	95	100
		COM	91	95
Médias	CULTIVAR	VPA	43*	92 ^{ns}
		HS	95	98
	Azospirillum	SEM	69 ^{ns}	93 ^{ns}
		COM	69	97
	DOSE N	0	72 ^{ns}	96 ^{ns}
		100	66	94
CV (%):			20,68	7,53

¹ 7, 14, 21 e 28 Dias Após a Semeadura

*Diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de Probabilidade

^{ns} Não diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de Probabilidade

Na Tabela 3 são apresentados os estádios fenológicos em que se encontravam as plantas sete, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Aos sete dias após a semeadura, as plantas de todos os tratamentos encontravam-se no estágio fenológico V1, segundo escala proposta por Ritchie et al. (1993), contendo uma folha completamente expandida. Aos 14 dias após a semeadura, algumas plantas se encontravam em V2 e outras em V3, dependendo do tratamento. No 21º dia após a semeadura, todas as plantas estavam em V4 e no 28º dia após a semeadura as plantas alcançaram os estádios fenológicos de V5 e V6, dependendo do tratamento.

Tabela 3 - Estádio fenológico do milho, de acordo com escala proposta por Ritchie et al. (1993), aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura em função de cultivar, dose de N e inoculação com *A. brasiliense*. Lages, SC, 2012.

Cultivar	Dose N	<i>Azospirillum</i>	Estádio			
			7 DAS	14 DAS	21 DAS	28 DAS
VPA	0	SEM	V1	V2	V4	V5
		COM	V1	V3	V4	V5
	100	SEM	V1	V3	V4	V6
		COM	V1	V3	V4	V6
HS	0	SEM	V1	V3	V4	V5
		COM	V1	V3	V4	V5
	100	SEM	V1	V2	V4	V5
		COM	V1	V3	V4	V5

2.5.3. Área Foliar

As plantas inoculadas com *Azospirillum* apresentaram na maior parte das avaliações maiores valores numéricos de área foliar do que as plantas que não foram inoculadas (Tabela 4). Apesar de haver uma diferença numérica que alcançou 34 cm² na avaliação realizada 28 dias após a semeadura, esta não foi suficiente para apresentar-se significativa estatisticamente.

Houve efeito significativo durante todo o período avaliado apenas do fator cultivar. Em todas as datas de avaliação, a VPA SCS 155 Catarina obteve área foliar superior ao Híbrido Simples P30R50H, corroborando os resultados reportados por Vieira et al. (2012), que também observou maior área foliar desta VPA quando comparada ao HS.

Não houve efeito significativo da aplicação de nitrogênio mineral sobre a área foliar nas quatro épocas de avaliação (Tabela 4). O nitrogênio atua diretamente nas regiões meristemáticas da planta, estimulando a divisão celular (TAIZ & ZEIGER, 2004). Este efeito não foi constatado no presente trabalho provavelmente porque no momento da colheita a área foliar era inferior a 500 cm² em todos os tratamentos. Uma planta de milho apresenta na floração de 6.000 a 9.000 cm² de área foliar (SANGOI et al., 2010). Portanto, menos de 10% da superfície fotossinteticamente ativa da planta havia se expandido na última avaliação realizada, o que atenuou os benefícios da inoculação e da fertilização nitrogenada sobre a dimensão do aparato fotossintético do milho.

Tabela 4 - Área Foliar de plantas de milho em função de cultivar, dose de N e inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Lages, SC, 2012.

CULTIVAR	DOSE N	<i>Azospirillum</i>	ÁREA FOLIAR (cm ²)			
			7 DAS	14 DAS	21 DAS	28 DAS ¹
VPA	0	SEM	10	75	177	307
		COM	10	78	181	360
	100	SEM	9	77	173	397
		COM	10	76	175	448
HS	0	SEM	7	55	141	293
		COM	7	56	146	303
	100	SEM	7	52	136	288
		COM	7	57	148	311
Médias	CULTIVAR	VPA	10*	77*	177*	378*
		HS	7	55	143	299
	<i>Azospirillum</i>	SEM	8 ^{ns}	65 ^{ns}	157 ^{ns}	321 ^{ns}
		COM	8	67	163	356
	DOSE N	0	9 ^{ns}	66 ^{ns}	161 ^{ns}	316 ^{ns}
		100	8	66	158	361
CV (%):			8,65	7,53	8,89	17,75

¹ 7, 14, 21 e 28 Dias Após a Semeadura

*Diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de Probabilidade

^{ns} Não diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de Probabilidade

A Figura 2 apresenta a análise de regressão da área foliar das plantas de milho em função da data de avaliação após a semeadura. As duas cultivares apresentaram incremento linear da área foliar dos 7 aos 28 dias após a semeadura nas parcelas inoculadas e não inoculadas, tanto na dose 0 quanto na de 100 kg de N ha⁻¹.

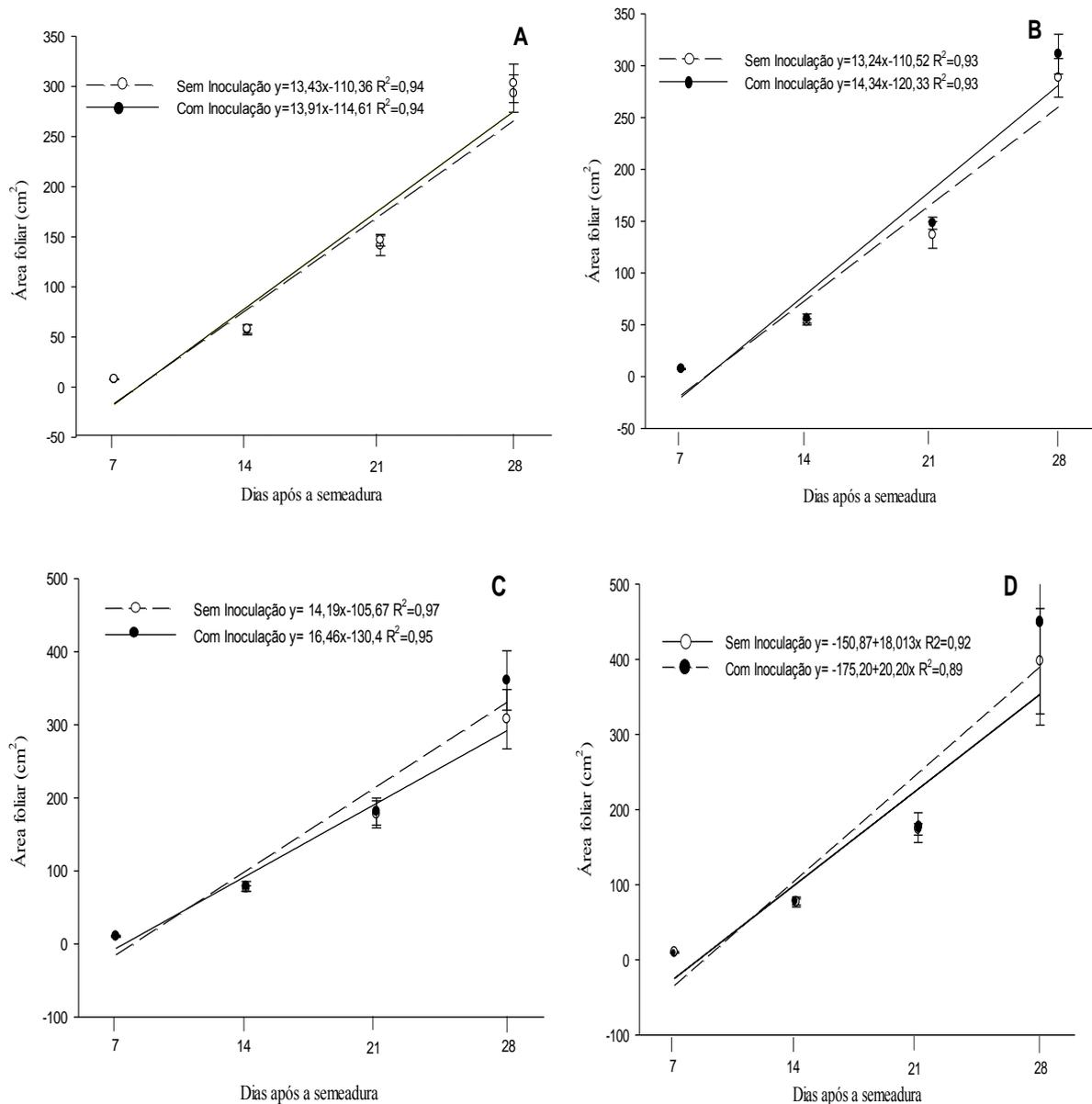


Figura 2 - Área foliar de cultivares de milho aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura. Híbrido simples com dose zero de nitrogênio (A), híbrido simples com dose 100 de nitrogênio (B), VPA com dose zero de nitrogênio (C) e VPA com dose 100 de nitrogênio (D).

2.5.4. Altura de planta

Houve efeito significativo da cultivar sobre a altura de planta aos 7, 14 e 21 dias após a semeadura (Tabela 5). Nestas épocas de avaliação, a VPA apresentou maior altura de planta do que o HS. A maior diferença de estatura entre as cultivares foi registrada na avaliação feita aos 21 dias após a semeadura, quando as plantas da VPA foram 8,0 cm mais altas do que

as do HS. O comportamento da estatura de planta confirmou o maior vigor inicial da VPA SCS 155 Catarina, em relação ao HS P30R50 reportado por Vieira (2012).

Não houve efeito significativo da aplicação de nitrogênio mineral sobre a estatura de planta para nenhuma época de avaliação. Os valores de altura de plantas para as dose 0 e 100 foram muito semelhantes. A maior diferença encontrada entre as doses foi na avaliação feita 28 dias após a semeadura, quando as plantas fertilizadas com 100 kg ha⁻¹ de N foram 4,0 cm mais altas do que aquelas que não receberam nitrogênio mineral na semeadura (Tabela 5). O nitrogênio atua diretamente nos meristemas de planta, estimulando a divisão celular e o crescimento em estatura. A ausência de diferença na estatura das plantas com e sem N provavelmente se deve ao fato de que o período de maior expansão de entre-nós e crescimento em altura do milho ocorre entre V6 e VT, após a diferenciação do pendão floral (SANGOI et al., 2010). Como as plantas foram colhidas entre V5 e V6, não houve tempo suficiente para que o fertilizante nitrogenado fomentasse o crescimento em estatura das plantas.

Tabela 5 - Altura de plantas de milho em função de cultivar, dose de N e inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Lages, SC, 2012.

CULTIVAR	DOSE N	<i>Azospirillum</i>	ALTURA (cm)			
			7 DAS	14 DAS	21 DAS	28 DAS
VPA	0	SEM	19	43	71	95
		COM	21	47	75	102
	100	SEM	20	46	78	110
		COM	20	47	79	105
HS	0	SEM	18	39	70	103
		COM	18	38	66	102
	100	SEM	17	36	59	97
		COM	18	41	76	106
Médias	CULTIVAR	VPA	20*	46*	76*	103 ^{ns}
		HS	18	39	68	102
	<i>Azospirillum</i>	SEM	18 ^{ns}	41 ^{ns}	70 ^{ns}	101 ^{ns}
		COM	19	43	74	104
	DOSE N	0	19 ^{ns}	42 ^{ns}	71 ^{ns}	100 ^{ns}
		100	19	43	73	104
CV (%):			5,34	6,92	10,63	6,72

¹ 7, 14, 21 e 28 Dias Após a Semeadura.

*Diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de Probabilidade

^{ns} Não diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de Probabilidade

Os valores numéricos da altura de plantas foram maiores nas parcelas inoculadas com *Azospirillum* do que nas não inoculadas em todas as épocas de avaliação. Contudo, as diferenças observadas não foram estatisticamente significativas. Os resultados deste trabalho diferem dos reportados por Dranski et al. (2012) que observaram incrementos na estatura de plantas quando as sementes de milho foram inoculadas com *Azospirillum brasiliense*. Por

outro lado, eles confirmam os dados obtidos por Cavallet et al. (2000), que avaliando o efeito de inoculante à base de *Azospirillum brasiliense* no tratamento de sementes, verificaram que apesar da produtividade ter sido acrescida pela inoculação, a altura de plantas não foi alterada.

2.5.5. Índice do Teor Relativo de Clorofila

A inoculação com *Azospirillum brasiliense* propiciou maior índice do teor relativo de clorofila nas folhas 21 dias após a semeadura quando as plantas inoculadas tiveram valor de 37,2 e as não inoculadas 34,9 (Tabela 6). Nas avaliações feitas aos 14 e 28 dias após a semeadura, as parcelas inoculadas também apresentaram maiores valores numéricos de teor relativo de clorofila do que as não inoculadas, mas as diferenças não foram significativas. Jordão et al. (2010) observaram diferença significativa entre os tratamentos em relação ao teor de clorofila nas folhas no milho, medido com o clorofilômetro SPAD. Estes mesmos autores concluíram que as médias de clorofila total de todos os tratamentos que receberam a inoculação das sementes com *Azospirillum brasiliense* foram maiores que os tratamentos não inoculados.

Tabela 6-Índice do teor relativo de clorofila de plantas de milho estimado pelo clorofilômetro em função de cultivar, dose de N e inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Lages, SC, 2012.

HÍBRIDO	DOSE N	<i>Azospirillum</i>	CLOROFILA			
			7 DAS	14 DAS	21 DAS	28 DAS
VPA	0	SEM	43,2	34,1	36,4	34,1
		COM	42,0	31,2	39,5	31,2
	100	SEM	45,5	37,3	30,0	37,3
		COM	43,3	39,3	36,1	39,3
HS	100	SEM	45,6	36,1	39,0	33,4
		COM	50,5	37,7	38,4	37,6
	0	SEM	45,6	38,6	34,1	36,8
		COM	43,3	35,5	34,6	34,6
Médias	CULTIVAR	VPA	43,5 ^{ns}	37,1 ^{ns}	35,5 ^{ns}	35,5 ^{ns}
		HS	46,2	36,9	36,5	35,6
	INOCULAÇÃO	SEM	44,9 ^{ns}	36,2 ^{ns}	34,9*	35,4 ^{ns}
		COM	44,8	37,9	37,1	35,7
	DOSE N	0	43,5 ^{ns}	36,8 ^{ns}	36,1 ^{ns}	34,2*
		100	46,2	37,3	35,9	36,9
CV (%):			7,11	9,04	7,08	5,37

¹ 7, 14, 21 e 28 Dias após a Semeadura

*Diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de Probabilidade

^{ns} Não diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de Probabilidade

Quando se comparou as doses de N, houve diferença significativa apenas para a avaliação realizada 28 DAS, quando a dose 100 foi superior à dose 0. Não houve diferenças

significativas entre cultivares quanto ao teor de clorofila nas folhas nas quatro épocas de avaliação.

A análise do teor de clorofila é um importante parâmetro para o desenvolvimento da planta, servindo para diferenciar as plantas com deficiência de N das que apresentam níveis adequados de N (RAMBO et al., 2004). O uso do clorofilômetro para esta avaliação é adequado, pois é um método mais rápido do que os laboratoriais, com baixo custo, e não implica na destruição das folhas (ARGENTA et al., 2001). Além disto, o clorofilômetro tem sido utilizado para determinar o teor de N da folha, visto que a clorofila e o nitrogênio se correlacionam positivamente nas plantas (MALAVOLTA et al., 1997).

2.5.6. Produção de Fitomassa

A massa seca da parte aérea não foi afetada significativamente pelos tratamentos testados no trabalho (Tabela 7). Por outro lado, houve diferenças significativas entre cultivares na massa seca de raízes. A VPA SCS 155 produziu maior massa seca radicular do que o HS, na média das parcelas inoculadas e não inoculadas e dos níveis de N. Vieira (2012) também observou maior desenvolvimento inicial da VPA SCS 155, em relação aos híbridos P30R50H e P30B30, corroborando os resultados do presente trabalho.

A inoculação com a bactéria diazotrófica *Azospirillum brasiliense* e aplicação de nitrogênio mineral propiciaram incrementos numéricos na massa seca radicular e de parte aérea. Contudo, estas diferenças não foram estatisticamente significativas.

Tabela 7 - Massa seca de parte aérea e raiz de plantas de milho em função da cultivar, dose de N e inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Lages, SC, 2012.

CULTIVAR	DOSE N (kg ha ⁻¹)	<i>Azospirillum</i>	MASSA SECA (g)	
			RAIZ	PARTE AÉREA
VPA	0	SEM	5,3 ^{ns}	11,7 ^{ns}
		COM	8,2	12,8
	100	SEM	9,0	15,5
		COM	9,4 ^{ns}	16,5 ^{ns}
HS	0	SEM	6,5 ^{ns}	15,1 ^{ns}
		COM	4,1	10,6
	100	SEM	4,5 ^{ns}	10,1 ^{ns}
		COM	6,1	14,9
Média	CULTIVAR	VPA	8,0*	14,1 ^{ns}
		HS	5,3	12,7
	<i>Azospirillum</i>	SEM	6,3 ^{ns}	13,1 ^{ns}
		COM	7,0	13,7
DOSE N	0	6,0 ^{ns}	12,6 ^{ns}	
	100	7,3	14,3	
CV (%):			36,23	27,07

*Diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de Probabilidade

^{ns} Não diferem estatisticamente pelo teste F a 5% de Probabilidade

O comportamento da massa seca de parte aérea e raízes observado no trabalho difere do reportado por Dranski et al (2012). Estes autores observaram incrementos nas duas variáveis com a utilização de doses crescentes de inoculante com *A. brasiliense* (0, 2, 4, 6 e 8 mL para 1000 g de sementes de milho). Conceição et al. (2008) trabalhando com recobrimento de sementes de milho com *Herbaspirillum seropedicae* observaram que com a inoculação com bactérias diazotróficas houve aumento no desenvolvimento da parte aérea das plantas, sem promover aumento da massa seca. Isto provavelmente ocorreu devido à ação das bactérias sobre o alongamento celular, pela turgescência vacuolar.

É possível que a falta de efeito significativo da inoculação e do fertilizante nitrogenado sobre a massa seca de parte aérea e raízes das cultivares avaliadas se deva a época de colheita do ensaio. Aproximadamente 75% da absorção de nitrogênio pelo milho ocorre entre a diferenciação do primórdio floral masculino e o florescimento (SANGOI et al., 2010). A maior parte das cultivares de milho transforma o meristema apical vegetativo num primórdio de pendão floral quando a planta tem cinco a seis folhas expandidas (RITCHIE et al., 1993). Como as plantas estavam entre V5 e V6 no momento da colheita do ensaio (Tabela 3), o período de maior demanda da planta por nitrogênio ainda não havia sido alcançado. Isto provavelmente mitigou os benefícios da inoculação e da fertilização nitrogenada sobre a área foliar (Tabela 4), estatura de plantas (Tabela 5) e produção de massa seca da parte aérea (Tabela 7).

2.6 Conclusões

A inoculação com *Azospirillum brasiliense* via tratamento de sementes não aumenta a área foliar e a produção de fitomassa no cultivo do milho.

A VPA SCS 155 Catarina apresenta maior velocidade de desenvolvimento inicial do que o híbrido simples P30R50, produzindo maior área foliar, plantas mais altas e maior massa seca de raízes.

3 CONTRIBUIÇÃO DO TRATAMENTO DE SEMENTES COM *Azospirillum brasiliense* E DE DOSES DE NITROGÊNIO MINERAL PARA O DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO EM DOIS NÍVEIS DE MANEJO

3.1 RESUMO

A adubação nitrogenada tem grande influência na definição do rendimento de grãos do milho. Além disso, o nitrogênio é um dos insumos que mais oneram o custo de produção na lavoura. Uma alternativa para melhorar a utilização do N pelo milho é a inoculação com bactérias diazotróficas. Este trabalho foi conduzido objetivando avaliar o efeito da inoculação com *Azospirillum brasiliense* sobre o desempenho agronômico do milho, submetido a doses crescentes de N em cobertura, em dois níveis de manejo. O experimento foi conduzido em Lages, SC, na safra 2011/2012. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, dispostos em parcelas sub-subdivididas. Na parcela principal testaram-se dois níveis de manejo: médio e alto. No nível médio utilizou-se a variedade de polinização aberta SCS 155 Catarina, semeada na densidade de 50.000 pl ha⁻¹. No nível alto empregou-se o híbrido simples P30R50, semeado na densidade de 90.000 pl ha⁻¹. Nas sub-parcelas avaliaram-se quatro doses de nitrogênio em cobertura: 0; 0,5; 1 e 1,5 da dose recomendada para atingir 8.000 kg ha⁻¹ no nível de manejo médio e 18.000 kg ha⁻¹ no nível de manejo alto, perfazendo 0, 65, 130 e 195 kg de N ha⁻¹ para o nível médio e 0, 140, 280 e 420 kg⁻¹ de N ha⁻¹ para o nível alto. Nas sub-subparcelas avaliou-se o efeito da inoculação. O rendimento de grãos foi maior no nível de manejo alto do que no médio, independentemente da dose de N e da inoculação. O rendimento de grãos aumentou quadráticamente com aumento nas doses de nitrogênio no nível de manejo alto, tanto nas parcelas inoculadas quanto nas não inoculadas. No nível de manejo médio houve incremento linear no rendimento de grãos dos tratamentos inoculados e não houve efeito significativo do N para tratamentos sem inoculação. Não houve diferenças significativas no rendimento de grãos dos tratamentos com ou sem inoculação de *Azospirillum brasiliense*.

Palavras-chave: *Zea mays*, bactérias fixadoras, nitrogênio, níveis tecnológicos.

3.2 ABSTRACT

CONTRIBUTION OF THE SEED TREATMENT WITH *Azospirillum brasiliense* AND N MINERAL RATES TO MAIZE AGRONOMIC PERFORMANCE AT TWO MANAGEMENT LEVELS

Nitrogen fertilization has great influence on the definition of maize grain yield. In addition to that, nitrogen is one of the inputs that have the largest impact on the crop production cost. An alternative to improve maize N use is the inoculation with diazotrophic bacteria. This study was conducted aiming to evaluate the effect of inoculation with *Azospirillum* on the agronomic performance of maize subjected to increasing rates of side-dressing N at two management levels. The experiment was set in Lages, SC, during the 2011/2012 growing season. A randomized block design arranged in split-split plots was used. Two management levels were tested in the main plots: medium and high. The open pollinated variety SCS 155 Catarina, sowed at 50.000 pl ha⁻¹, was used at the medium management level. The single-cross hybrid P30R50, sowed at 90.000 pl ha⁻¹, was assessed at the high management level. Four nitrogen rates were side-dressed in the split plots: 0; 0.5; 1.0; and 1.5 times the recommended rate for each management level, accounting to 0, 65, 130 and 195 kg of N ha⁻¹ at the medium management level and to 0, 140, 280 and 420 kg of N ha⁻¹ at the high management level. The *Azospirillum brasiliense* inoculation effect was evaluated in the split-split plots. Grain yield was greater at the high management level than at the medium management level, regardless of mineral N rate and inoculation. Grain yield increased quadratically with the increment in N side-dressed rate at the high management level with and without *Azospirillum brasiliense* inoculation. At the medium management level, grain yield increased linearly with the increment in N rate when plants were inoculated and it was not affected by N rate when the inoculation was not performed. There was no significant difference in grain yield between treatments with or without inoculation with *Azospirillum brasiliense*.

Key-words: *Zea mays*, fixing bacteria, nitrogen, technological levels.

3.3 INTRODUÇÃO

As estatísticas das últimas safras mostram que ainda há muito que se fazer para aumentar a produtividade do milho no Brasil. A produtividade do país está muito aquém do que pode ser alcançado pela cultura e não reflete o bom nível tecnológico já alcançado por parte dos produtores direcionados para lavouras comerciais.

Assim, mesmo nas regiões que apresentam melhores produtividades, a amplitude de variação do rendimento é muito grande, em função do nível tecnológico adotado e da capacidade gerencial de cada produtor.

Entre os principais fatores responsáveis pela baixa produtividade do milho no Brasil podem ser citados a baixa densidade de plantio, a implantação da cultura fora da época adequada, o uso de cultivares com baixa adaptação à região e/ou ao sistema de produção adotado, a correção e a adubação do solo feitas empiricamente (sem análise prévia de solo) e o baixo uso de fertilizantes, especialmente a adubação nitrogenada em cobertura.

Pode-se, portanto, afirmar que há uma clara dualidade na produção de milho no Brasil. De um lado, grande parcela de pequenos produtores que não se preocupam com a produção comercial, com baixos índices de produtividade e que não tem capacidade de investimento em tecnologia de produção. Do outro lado há uma pequena parcela de grandes produtores com alto índice de produtividade que faz uso de mais capital e mais tecnologia na produção de milho. Segundo dados do censo agropecuário do IBGE (2006), 83% da área destinada ao cultivo de milho é responsável por 40% da produção nacional, enquanto 17% da área destinada ao cultivo deste cereal produz 58% do total. Estes dados demonstram o grande número de pequenos agricultores que tem produtividade baixa, contribuindo para reduzir a média nacional.

O desafio no incremento da produtividade do milho é fazer o básico de forma eficiente, utilizando estande adequado, fertilidade equilibrada e cultivares adaptadas a cada região (SANTOS et al., 2005). Muitos produtores não estão utilizando essa tecnologia mínima, obtendo produtividade baixa e, por consequência, reduzindo o lucro e até inviabilizando economicamente o cultivo.

Nos sistemas de produção, os fatores tecnológicos podem ser divididos naqueles responsáveis pela construção da produtividade e os que protegem a produtividade (COELHO et al., 2004). Dentre os fatores de construção da produtividade, destacam-se as cultivares, a adubação e as condições climáticas (água e temperatura). O controle de pragas, doenças e

plantas daninhas são estratégias de manejo que protegem a produtividade. Em uma lavoura que se almeja produtividades elevadas todos estes fatores devem ser observados e garantidos, de modo a dar a planta suporte para que se desenvolva melhor e possa elevar o rendimento de grãos.

O milho é a gramínea mais sensível à variação na densidade de plantas. Para cada sistema de produção e nível de tecnologia empregado existe uma população que maximiza o rendimento de grãos. A população ideal para maximizar o rendimento de grãos de milho varia de 30.000 a 90.000 plantas ha⁻¹, dependendo da disponibilidade hídrica, da fertilidade do solo, do ciclo da cultivar, da época de semeadura e do espaçamento entrelinhas (SANGOI, 2000). A população de plantas utilizada pela maioria dos produtores varia entre 40.000 plantas ha⁻¹ e 70.000 plantas ha⁻¹, de acordo com o nível tecnológico utilizado.

A escolha do material genético a ser semeado também influencia diretamente na produtividade de grãos. Atualmente, o agricultor pode escolher entre dois tipos de cultivares, os híbridos e as variedades de polinização aberta (VPA). No ano agrícola 2010/11, as distribuições percentuais de sementes disponíveis dos diferentes tipos de cultivares apresentaram as seguintes proporções: híbrido simples 48%, híbrido triplo 22%, híbrido duplo 19% e variedade de polinização aberta com 11% (CRUZ et al., 2012).

O híbrido simples (HS) é oriundo do cruzamento de duas linhagens e geralmente é o mais produtivo dos híbridos, pois explora toda a heterose disponível naquele cruzamento, sendo que cada genitor contribui com 50% do material genético. Ele apresenta grande uniformidade de plantas e espigas. A semente é de alto custo, devido à baixa produtividade da linhagem utilizada como fêmea. Ele é direcionado a produtores que empregam alta tecnologia na lavoura e tem maior capacidade de investimento devido ao maior potencial produtivo e à uniformidade morfológica e fenológica, as quais facilitam o manejo da cultura (FANCELLI & DOURADO-NETO, 2000).

As variedades de polinização aberta apresentam como características favoráveis a maior estabilidade produtiva, o menor custo de sementes e a possibilidade de reutilizá-las por vários anos agrícolas (BISOGNIN et al., 1997). Além disto, as variedades de polinização aberta apresentam maior variabilidade genética, o que pode conferir maior tolerância a estresses (EPAGRI-SC, 2011).

Deste modo, pode-se inferir que para cada nível de manejo utilizado há materiais genéticos mais adequados, bem como adubação e formas de manejo da cultura. Cada nível de manejo conta com desafios próprios para que se possa alcançar a maior produção possível. No nível de alto manejo e tecnologia são utilizados híbridos simples, altas doses de adubação e

principalmente altas doses de N, aplicação de fungicidas, herbicidas e inseticidas. Atualmente se utilizam híbridos transgênicos, irrigação suplementar e altas populações de plantas. Este tipo de manejo possibilita alcançar tetos produtivos na ordem de 15 a 18 t ha⁻¹.

No nível médio de manejo e tecnologia, o produtor utiliza cultivares de menor custo como exemplo a VPA, onde pode utilizar sementes da própria lavoura para cultivo posterior, além de pagar menos pelas sementes, não faz uso de irrigação suplementar ou tratamentos com fungicidas, inseticidas e herbicidas ou usa muito pouco. Este produtor almeja tetos produtivos de 5 a 8 t ha⁻¹, os quais muitas vezes não são alcançados.

A adubação também difere conforme o nível de tecnologia a ser utilizado. A cultura do milho responde progressivamente à utilização de alta adubação, desde que os demais fatores estejam em níveis ótimos, sendo o nitrogênio o nutriente que apresenta maior resposta de incremento do rendimento de grãos (SANGOI et al, 2010). A recomendação da adubação nitrogenada em cobertura para a cultura do milho de sequeiro varia de 40 a 80 kg de N ha⁻¹. Em sistemas de elevado nível tecnológico, onde se faz uso de irrigação para a obtenção de elevadas produtividades, essa recomendação é insuficiente. Nessas condições, doses de nitrogênio variando de 100 a 250 kg ha⁻¹ podem ser necessárias para a obtenção de elevadas produtividades (COELHO, 2000). Por este motivo, o adubo nitrogenado é o que mais onera o custo da adubação, chegando a representar cerca de 40% do custo total de produção da cultura do milho (REIS-JÚNIOR,2008).

Além da necessidade de reduzir custos em geral e com a adubação nitrogenada, também é crescente a preocupação com a poluição dos recursos hídricos e da atmosfera, pelo uso de fertilizantes nitrogenados, em virtude deste nutriente estar sujeito a perdas por erosão, lixiviação, volatilização e desnitrificação (PANG et al., 1997; LARA CABEZAS et al., 2000), além de apresentar elevado custo energético para a sua obtenção.

Em virtude disso, cada vez mais tem sido estimulada a busca de alternativas que possibilitem maximizar economicamente a melhor dose, aliada à melhor época de aplicação desse nutriente na cultura do milho (RAIJ et al., 1996). Uma das alternativas que recentemente vem sendo estudada é a utilização de bactérias diazotróficas promotoras de crescimento, principalmente do gênero *Azospirillum*, que podem ampliar a absorção de nitrogênio pela planta, reduzindo a quantidade de adubo mineral a ser aplicado, e estimular o crescimento das plantas.

A interação positiva entre estas bactérias e o milho tem sido demonstrada por vários autores. Embora ainda não seja prática agrícola consolidada, levantamentos de diversos experimentos realizados em vários países mostram que a inoculação com *Azospirillum*

resultou, em muitos casos, no aumento da produção de massa seca matéria seca da planta e dos grãos e no maior acúmulo de N nas plantas inoculadas. Tais vantagens foram reportadas por Okon (1994), em trabalho onde dois híbridos de milho foram inoculados com *Azospirillum amazonensis*.

Resultados obtidos por Reis Junior (2008) demonstraram que plantas inoculadas com *A. amazonense* apresentaram maior conteúdo de N nas raízes. Este aumento nos teores de N em plantas inoculadas com *Azospirillum* spp. é comumente relatado, podendo ser resultado tanto da fixação biológica de N₂, quanto dos mecanismos de promoção do crescimento, que podem incrementar a capacidade das plantas em absorver este nutriente (DOBBELAERE et al., 2001).

Na literatura existem vários trabalhos confirmando que o *Azospirillum* produz fitohormônios que estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas. Tien et al. (1979) verificaram que os componentes responsáveis pelo estímulo do crescimento de raízes liberados por *A. brasilense* eram o ácido indol-acético (AIA), giberelinas e citocininas.

Também em ensaios conduzidos por Hungria (2011), várias dessas observações foram confirmadas, podendo ser visualizadas maior produção de raízes, maior altura de plantas e coloração mais verde pelo maior teor de clorofila, resultantes da inoculação com *Azospirillum brasiliense*.

De acordo com Hungria (2011), a inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasiliense*, associada à aplicação de 24 kg ha⁻¹ de N na semeadura, resultou em rendimentos de 3400 kg ha⁻¹, que podem ser interessantes economicamente no caso de milho safrinha, ou para a agricultura familiar. Com a suplementação adicional de 30 kg ha⁻¹ no florescimento é possível alcançar rendimentos da ordem de 7000 kg ha⁻¹ pela inoculação. Se confirmada, essa contribuição pode vir a ser interessante tanto do ponto de vista econômico, quanto ambiental, pois também devem ser considerados os benefícios por menor poluição ambiental que resulta da produção e utilização de fertilizantes nitrogenados, bem como pela redução na emissão de gases de efeito estufa.

Desta forma, o objetivo do experimento foi avaliar a contribuição da inoculação com *Azospirillum brasiliense* no desempenho agrônômico do milho cultivado sob doses crescentes de N mineral, em dois níveis de manejo.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no distrito de Santa Terezinha do Salto, localizado a 20 km da cidade de Lages, no Planalto Sul de Santa Catarina, durante o ano agrícola de 2011/12. As coordenadas geográficas da área experimental são 27°50'35" de latitude Sul e 50°02'45" de longitude oeste, com uma altitude de 849 metros. O clima da região é do tipo Cfb mesotérmico, com verões brandos, temperaturas médias do mês mais quente inferiores a 22°C e precipitações pluviais bem distribuídas, de acordo com a classificação de Köppen.

O solo da área experimental é classificado como Nitossolo Vermelho Distrófico típico (EMBRAPA, 2006). Foi realizada análise da fertilidade do solo em setembro de 2010. Este apresentava 420 g kg⁻¹ de argila; 50,0 g kg⁻¹ de matéria orgânica; pH H₂O 5,6; índice SMP 5,8; 5 mg dm⁻³ de P; 0,50 cmolc kg⁻¹ de K; 6,0 cmolc kg⁻¹ de Ca; 2,8 cmolc kg⁻¹ de Mg; 0,3 cmolc kg⁻¹ de Al e 15,3 cmolc kg⁻¹ de CTC. Na área cultivada utiliza-se o sistema de semeadura direta do milho, sobre cobertura morta do consórcio de aveia preta (*Avena strigosa*) e ervilhaca (*Vicia sativa*).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados dispostos em parcelas sub-subdivididas, com três repetições. Foram avaliados dois níveis de manejo, quatro doses de nitrogênio e a presença ou ausência de inoculação com *Azospirillum brasiliense*.

Na parcela principal foram alocados os níveis alto e médio de manejo. Nas subparcelas alocou-se as doses de nitrogênio em cobertura, correspondendo a 0; 0,5; 1 e 1,5 a dose recomendada pela Comissão Sul-brasileira de Química e Fertilidade do Solo para cada nível de manejo, correspondendo a 0, 140, 280 e 420 kg ha⁻¹ de nitrogênio para nível alto e 0, 65, 130 e 195 kg ha⁻¹ para o nível médio. Nas sub-subparcelas foram testadas a presença ou ausência de inoculação com *Azospirillum brasiliense*.

No nível alto de manejo objetivou-se potencializar o rendimento de grãos, de modo a obter rendimento considerado muito alto. Para tanto foi utilizado o híbrido simples P30R50H. Empregou-se uma densidade de 90.000 plantas ha⁻¹ e realizou-se adubação e manejo fitossanitário almejando um teto produtivo de 18.000 Kg ha⁻¹. Neste nível de manejo foram aplicados no dia da semeadura 30 kg ha⁻¹ de N, 295 Kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 170 Kg ha⁻¹ de K₂O. Foi feito um tratamento fitossanitário com o fungicida azoxistrobina+ciproconazol no estágio fenológico de V12. A adubação de cobertura com nitrogênio foi realizada na linha de semeadura em três épocas quando as plantas estavam nos estádios fenológicos de V4, V8 e V12 da escala de Ritchie et al. (1993).

Para o nível médio de manejo foi utilizada a Variedade de Polinização Aberta SCS 155 Catarina. Empregou-se a densidade de 50.000 plantas ha⁻¹, almejando uma produtividade de 8.000 Kg ha⁻¹. Foram aplicados na semeadura 30 kg ha⁻¹ de N, 145 Kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 70

Kg ha⁻¹ de K₂O. A adubação de nitrogênio em cobertura foi realizada numa única aplicação feita quando as plantas encontravam-se no estágio fenológico V8.

Na primeira quinzena de junho de 2011 procedeu-se a semeadura de um consórcio de aveia preta (*Avena strigosa*) mais ervilhaca, utilizando-se 80 kg ha⁻¹ de sementes de aveia preta e 70 kg ha⁻¹ de ervilhaca para cobertura verde de inverno. Esta cobertura de inverno foi dessecada mediante a aplicação do herbicida glifosato no final do mês de setembro. A semeadura das unidades experimentais foi realizada no dia 19 de outubro de 2011 utilizando semeadoras manuais. Foram depositadas três sementes por cova. O espaçamento entrelinhas para ambos os níveis de manejo foi de 0,7 m. As sementes foram tratadas no dia da semeadura com inseticida à base de imidacloprido + tiodicarbe (300 mL/100kg) e com o fungicida a base de fludioxonil+metalaxyl-m (150 ml/100 kg de sementes) para controle preventivo de pragas e doenças na fase inicial do ciclo da cultura. Após o tratamento de sementes com inseticida e fungicida e imediatamente antes a operação da semeadura, as sementes foram inoculadas com Masterfix Gramíneas na dose de 100 mL para cada 20 kg de sementes.

O controle de plantas daninhas foi efetuado com duas aplicações de herbicida. A primeira foi feita em pré-emergência das plantas daninhas, na semeadura, com uma mistura de atrazina e s-metolaclo (1.250 + 1.250 g ha⁻¹ de i.a.). A segunda aplicação foi realizada em pós-emergência quando as plantas de milho estavam no estágio V4, utilizando o produto tembotriona (100 g ha⁻¹ de i.a.). A lagarta do cartucho foi controlada com duas aplicações dos inseticidas lufenuron + lambdacyhalothrin (15 + 7,5 g de i.a. ha⁻¹) quando as plantas estavam nos estádios V6 e V12, da escala de Richie et al. (1993).

Cada sub-subparcela foi composta por quatro linhas de seis metros de comprimento. Todas as avaliações foram feitas na duas fileiras centrais das sub-subparcelas.

As avaliações referentes à fenologia da cultura foram efetuadas determinando-se a duração dos subperíodos emergência-pendoamento, pendoamento-espigamento, espigamento-maturação fisiológica e ciclo total da cultura. Para cômputo do subperíodo emergência-pendoamento, contou-se o número de dias existentes entre a exteriorização do coleóptilo e a emissão do pendão floral acima da folha bandeira, com deiscência dos grãos de pólen em mais de 50% das plantas. A duração do subperíodo pendoamento-espigamento equivaleu ao número de dias compreendidos entre a presença do pendão floral com deiscência de pólen em 50% das plantas e a visualização de estigmas com pelo menos 1 cm acima da pálea da espiga em mais de 80% das plantas. A duração do subperíodo espigamento-maturação fisiológica foi obtida computando-se o número de dias decorridos entre a exteriorização dos estigmas e o aparecimento da camada preta no ponto de inserção dos grãos da fração mediana da espiga em

80% das plantas amostradas. O ciclo total de cultivo foi obtido através da soma dos subperíodos desde a exteriorização do coleóptilo até o aparecimento da camada preta no ponto de inserção dos grãos no sabugo.

O número de folhas senescidas foi determinado quando o milho se encontrava no estágio R2 da escala de Ritchie et al. (1993) através da contagem do número de folhas que apresentavam mais de 50% da área foliar senescida. Para estimativa do índice do teor relativo de clorofila foi utilizado o clorofilômetro SPAD 502 Plus, utilizando para as avaliações sempre a folha índice, a folha que se localiza abaixo da espiga. A estatura de plantas e altura de inserção de espiga foram medidas após o espigamento, quando as plantas já não tem mais crescimento vegetativo, utilizando-se trenas. O diâmetro do colmo foi realizado no momento da colheita através de duas medições realizadas por paquímetro digital. Por não ser uma esfera, foram realizadas duas medições no segundo entre-nó acima da superfície do solo, obtendo-se uma média para representar o diâmetro do colmo.

Também antes da colheita determinaram-se as percentagens de plantas sem espigas e o número de espigas produtivas por planta. Para avaliação da esterilidade feminina, consideraram-se como espigas produtivas aquelas que tinham mais de 10 grãos formados. O número de espigas por planta foi obtido dividindo-se o número de espigas colhidas pelo número de plantas existentes na área útil das unidades experimentais. A percentagem de colmos quebrados foi estimada contando-se o número de plantas quebradas e o número total de plantas da área útil. Foi considerada quebrada a planta que apresentava ruptura do colmo abaixo da espiga. Foram consideradas plantas acamadas, aquelas cujo ângulo entre os entrenós inferiores do colmo e o solo era menor do que 45°.

A colheita das espigas foi feita manualmente quando a umidade dos grãos estava entre 18 e 25%. Para avaliação do rendimento de grãos e seus componentes (número de grãos por espiga, número de grãos m² e massa de mil grãos) foram consideradas todas as plantas da área útil. As espigas foram trilhadas com uma trilhadora estacionária. Os grãos foram acondicionados em estufa, sob ventilação e temperatura de aproximadamente 65°C, até atingirem massa constante. Os pesos obtidos da massa seca de grãos colhidos na área útil das subparcelas foram convertidos para um hectare, na umidade padrão de 130 g kg⁻¹, determinando-se o rendimento de grãos. Uma amostra de 400 grãos inteiros por tratamento foi separada e pesada. Esta amostra foi submetida à secagem em estufa regulada para 105°C por 72 horas. Depois de ser determinada a massa seca, esta foi multiplicada pelo fator 2,5 e convertida para 130 g kg⁻¹ e utilizada para expressar a massa de mil grãos. O número de grãos por espiga foi obtido através de relações entre a massa de mil grãos, a massa total de grãos e o

número de espigas colhidas na área útil de cada unidade experimental. O número de grãos produzidos por área (m²) foi obtido através das relações entre o número de espigas por área, número de grãos nas espigas e densidade de plantas do ensaio.

A incidência de grãos ardidos foi determinada conforme critério estabelecido na portaria nº 11, de 12/04/96 (Brasil, 1996), separando-se manualmente os grãos visualmente sintomáticos (ardidos = descoloração de mais de um quarto da superfície total do grão) dos grãos sadios, em quatro amostras de 250 g de grãos (TRENTO et al., 2002; CASA et al., 2005). Os grãos ardidos foram pesados e, por regra de três, foi calculado o percentual de ocorrência por tratamento.

A eficiência agronômica de uso do nitrogênio (EUN) foi calculada a partir da relação entre quantidade (kg) de grãos produzidos dividida pela quantidade em quilogramas de nitrogênio total aplicado (FAGERIA et al, 2006).

Foram instalados pluviômetros na área experimental a partir dos quais foi possível efetuar o monitoramento dos dados pluviométricos e observar a necessidade de efetuar irrigação. Os demais dados meteorológicos necessários ao cálculo do balanço hídrico da cultura e a temperatura para obtenção da soma térmica foram obtidos junto à Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A. – EPAGRI; Centro integrado de Meteorologia e Recursos Hídricos de Santa Catarina – CLIMERH - Estação Agrometeorológica de Lages-SC. A estação meteorológica fica localizada a, aproximadamente, 20 km da área experimental. Esses dados foram utilizados para cálculo do balanço hídrico relativo à estação de crescimento compreendida entre outubro de 2011 a abril de 2012, conforme metodologia desenvolvida por Thorntwaite & Mather (1955).

As temperaturas máximas e mínimas foram utilizadas para calcular a soma térmica. Segundo Nesmith & Ritchie (1992), o método da soma térmica é utilizado para relacionar temperatura e desenvolvimento do milho. Ele consiste em utilizar a soma de temperaturas, unidades térmicas ou graus-dia (GD), que é definida como o acúmulo térmico, acima de uma temperatura base, necessária para que a planta atinja um determinado estágio fenológico de seu desenvolvimento. O cálculo da soma térmica é obtido considerando a temperatura base de 10°C para todo o ciclo da cultura do milho, conforme recomendação de Berlato & Matzenauer (1986). A soma térmica é um parâmetro encontrado com frequência em estudos desenvolvidos no Brasil (FANCELLI & DOURADO NETO, 2000).

Os dados obtidos foram avaliados estatisticamente pela análise de variância. Quando alcançada significância estatística no teste F, as médias dos fatores qualitativos nível de manejo e inoculação foram comparadas entre si pelo teste de Tukey. O efeito das doses

crecentes de nitrogênio foi avaliado por análise de regressão, ambos ao nível de significância de 5%.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 Dados meteorológicos

No ano agrícola 2011/12, a temperatura média oscilou entre 16,5°C a 21,9°C (Tabela 8). No mês de outubro, no qual foi efetuada a semeadura, a temperatura média foi superior à média mensal dos últimos anos para a região. Porém, nos meses de novembro e dezembro as temperaturas médias foram inferiores com relação à média dos anos anteriores. Este período coincidiu desde a emergência (VE) até o florescimento (VT). Portanto, grande parte do período vegetativo da cultura foi com temperatura inferior ao ocorrido na média dos anos anteriores, o que alongou a duração do sub-período emergência-antese. A temperatura é o principal fator climático que interfere na velocidade do crescimento do milho, pois afeta a eficiência da fotossíntese, refletindo no ciclo da cultura (SANGOI et al., 2010).

Tabela 8 - Temperatura média mensal do ar durante o ano agrícola 2011/2012 e temperatura média entre outubro e abril de 1976 a 2010. Lages-SC.

Período	Temperaturas médias mensais (°C) ^{1/}							Média
	Out.	Nov.	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	
Média entre 1976/2010	16,2	17,7	19,7	19,8	20,0	19,7	15,9	18,5
Ano agrícola de 2011/12	16,7	17,3	18,8	20,2	21,9	19,3	16,5	18,7

^{1/}Dados fornecidos pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A. – EPAGRI; Centro integrado de Meteorologia e Recursos Hídricos de Santa Catarina – CLIMERH; Estação Agrometeorológica de Lages-SC.

As condições de umidade do solo na semeadura foram favoráveis, pois mesmo ocorrendo excesso hídrico no segundo decêndio de outubro, quando foi efetuada a semeadura o solo estava no estado friável, situação esta que favorece a implantação da cultura e garante o estande de plantas (Figura 3). Houve déficit hídrico quando as plantas se encontravam em V16. Nesta ocasião foi efetuada irrigação de 30 mm para suprir as necessidades da cultura. Posteriormente, em R5 e R6 foram efetuadas mais duas irrigações de 30 e 25 mm, respectivamente. O experimento foi irrigado com o intuito de proporcionar um ambiente favorável ao desenvolvimento das plantas.

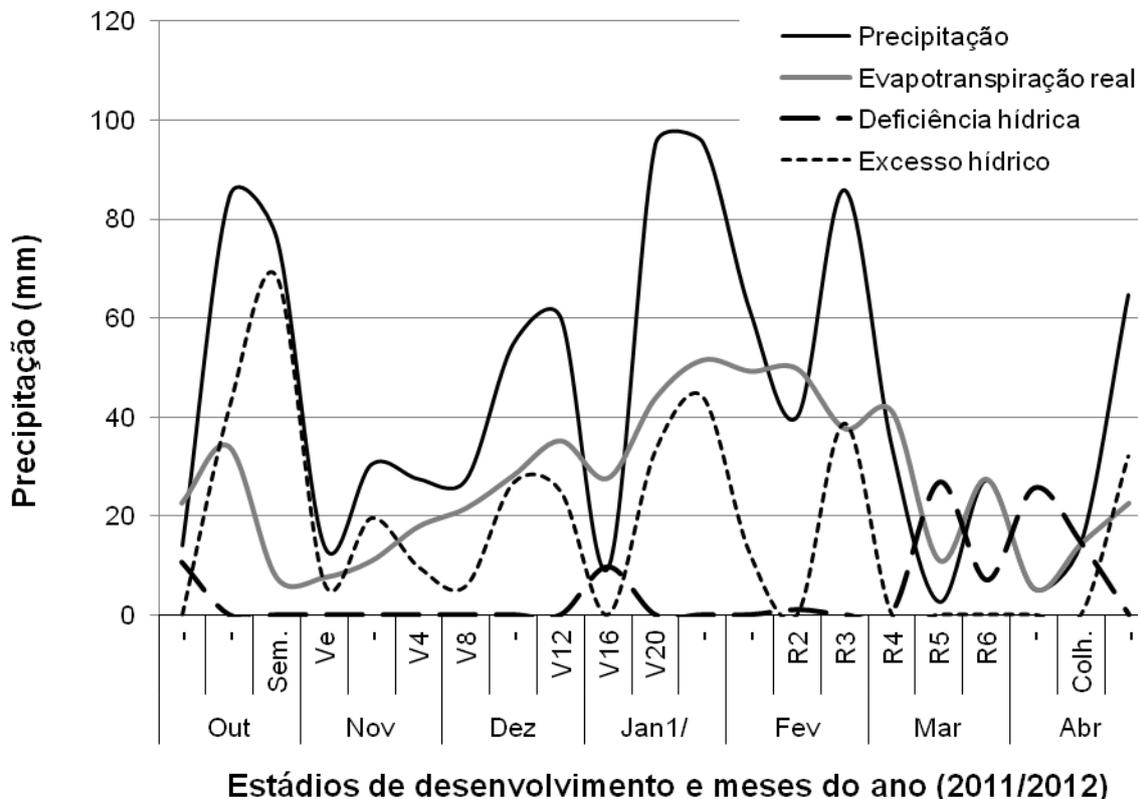


Figura 3 - Balanço hídrico do ano agrícola de 2011/12 segundo metodologia proposta por Thornthwaite & Mather (1955), considerando a capacidade de armazenamento de água no solo de 75 mm. Lages-SC. 1/Conforme escala de desenvolvimento proposta por Ritchie et al. (1993).

3.5.2 Soma térmica

A Figura 4 apresenta a soma térmica mensal disponível à cultura do milho no município de Lages durante o ano agrícola de 2011/2012. Os valores de soma térmica variaram de 193 a 344 graus-dia. O mês com maior soma térmica foi fevereiro, em função da maior temperatura atmosférica (Tabela 8). O mês mais frio, com menor soma térmica, foi abril.

A disponibilidade térmica tem influência direta sobre o desenvolvimento fenológico das plantas, de tal forma que locais ou períodos mais quentes determinam desenvolvimento mais rápido destas. Logo, em regiões ou mesmo em épocas de semeadura mais quentes, há maior precocidade no desenvolvimento das plantas (BERGAMASCHI, 2006).

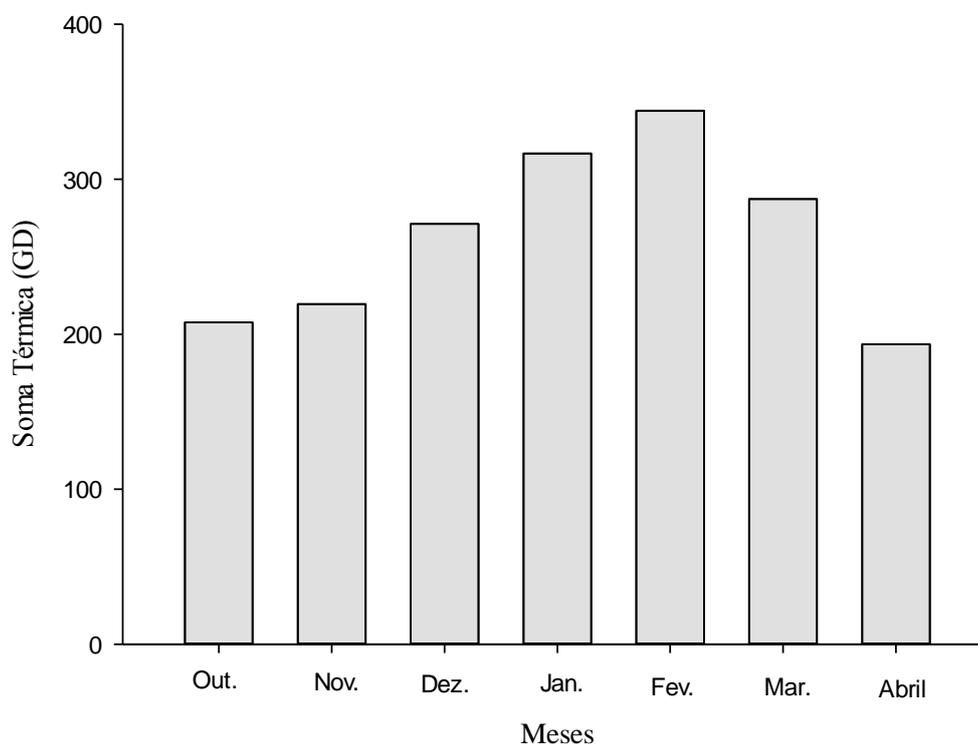


Figura 4- Soma térmica mensal em graus-dia do milho no ano agrícola 2011/2012. Lages-SC.

3.5.3 Folhas senescentes e índice do teor relativo de clorofila

O número de folhas senescentes do milho no início do enchimento de grãos foi afetado pela interação entre dose x inoculação e pelo sistema de manejo da cultura. Nos dois níveis de manejo, ele decresceu linearmente com o aumento na dose de N nas parcelas inoculadas e não foi afetado significativamente pela quantidade de fertilizante mineral aplicada em cobertura nas parcelas não inoculadas (Figuras 5 e 6). Este comportamento pode indicar que houve interação entre as contribuições do nitrogênio mineral e do fornecido pela bactéria, que ocasionou o retardamento da senescência foliar das plantas inoculadas. O fitohormônio citocinina participa de inúmeros processos de regulação vegetal, entre eles a senescência foliar (TAIZ & ZIEGER, 2004). Conforme citado por Peoples et al. (1995), Fallik et al. (1988), Dobbelaere et al. (1999), Lambrecht et al. (2000) e Lin et al. (1983), as bactérias diazotróficas podem contribuir não apenas com aporte suplementar de nitrogênio, mas também com a produção de hormônios que estimulam o crescimento e desenvolvimento das plantas, bem como retardamento de senescência foliar, o que pode explicar o comportamento distinto entre plantas inoculadas e não inoculadas observado no presente experimento.

De acordo com Quadros (2009), a inoculação com *Azospirillum* mesmo com doses complementares de nitrogênio baixas, permite melhor desempenho e fornecimento de N pela

bactéria. Todavia, no mesmo trabalho não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos controle (sem inoculação) e os inoculados quanto ao número de folhas senescentes.

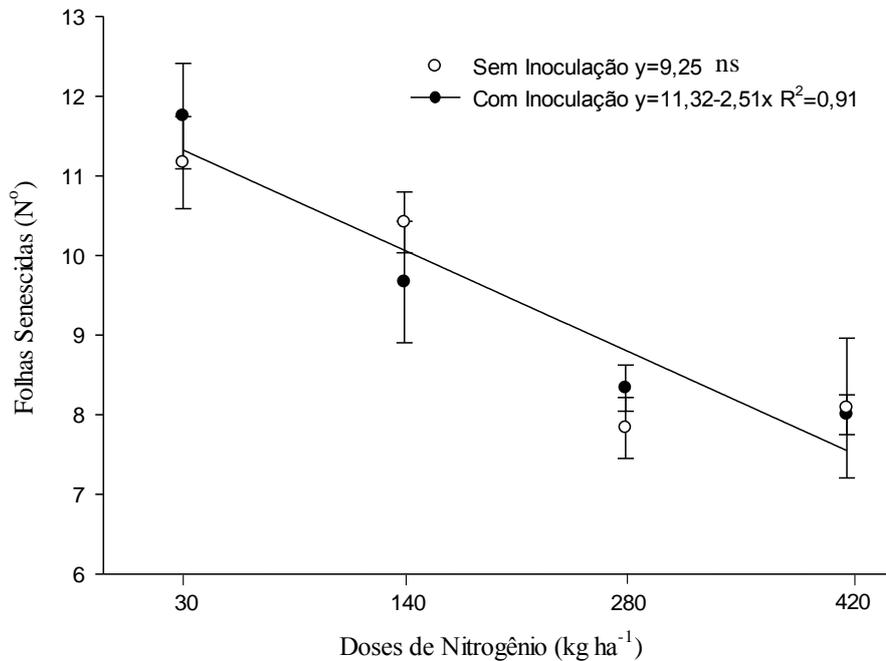


Figura 5 - Número de folhas senescentes em plantas de milho em função de doses crescentes de nitrogênio, com e sem inoculação com *Azospirillum brasilense*, no nível de manejo alto. Lages, 2011/2012.

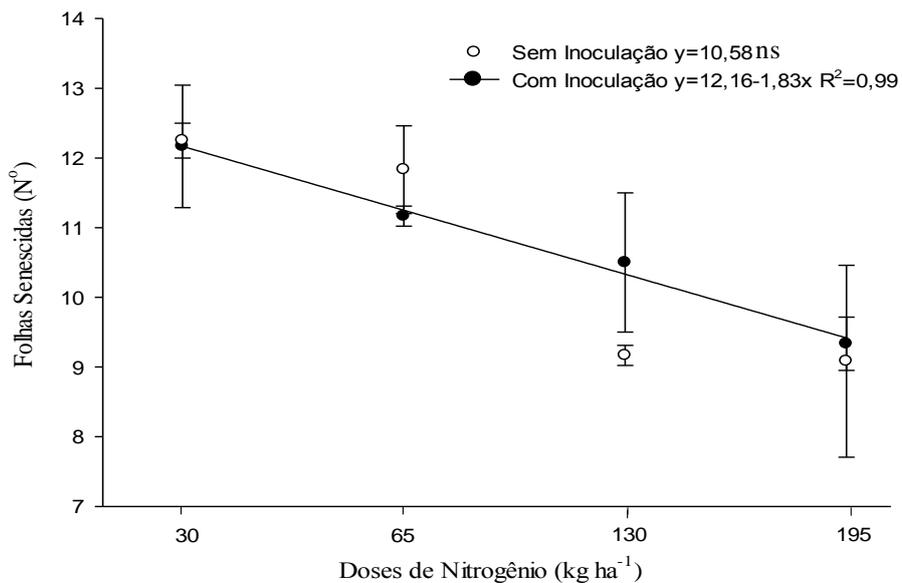


Figura 6 - Número de folhas senescentes em plantas de milho em função de doses crescentes de nitrogênio, com e sem inoculação com *Azospirillum brasilense*, no nível de manejo médio. Lages, 2011/2012.

Houve maior número de folhas senescentes no sistema de médio manejo do que no de alto manejo (Tabela 9). Por outro lado, o índice relativo de clorofila medido pelo clorofilômetro foi mais alto no sistema de médio do que no de alto manejo. Provavelmente este comportamento se deve a característica genética da VPA de apresentar maior quantidade de clorofila nas folhas do que o HS, pois as doses de N aplicadas no sistema de alto manejo foram mais altas. Contudo, não houve efeito isolado da dose de N ou da inoculação sobre o teor relativo de clorofila. Portugal et al. (2012) também não observaram influência da inoculação ou adubação nitrogenada em cobertura no índice de clorofila foliar. Tal fato pode ser explicado porque quando a planta absorve quantidade excessiva de N, este acumula-se na forma de nitrato (DWYER et al.,1995). Dessa maneira, o N não se associa à molécula de clorofila, sendo assim, não é detectado pelo medidor de clorofila.

Tabela 9 - Número de folhas senescentes e teor relativo de clorofila de plantas de milho em função do nível de manejo, dose de N e inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Lages, SC, 2011/2012.

Tecnologia	Doses N (kg ha ⁻¹)	<i>Azospirillum</i>	Folhas Senescentes (n°)	Clorofila	
Alta	0	Sem	11,7	29,9	
		Com	11,0	32,2	
	140	Sem	10,4	43,5	
		Com	9,6	43,5	
	280	Sem	7,8	52,5	
		Com	8,3	50,5	
	420	Sem	8,0	51,0	
		Com	8,0	52,5	
	Alto Manejo			9,4 b*	44,4 b
	Média	0	Sem	12,2	33,2
Com			12,1	33,2	
65		Sem	11,8	43,6	
		Com	11,1	49,0	
130		Sem	9,1	53,1	
		Com	10,5	56,6	
195		Sem	9,0	57,0	
		Com	9,3	54,9	
Médio Manejo			10,6 a	47,6 a	
Média Inoculação		Sem		9,9 a	45,5 a
	Com		10,1 a	46,5 a	
CV (%)			6,89	4,93	

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo Teste Tukey (P<0,05).

3.5.4 Diâmetro de colmo, plantas sem e com duas espigas

As plantas apresentaram colmos com maior diâmetro no sistema de médio do que no de alto manejo (Tabela 10). Este fato pode ser explicado pela utilização de diferentes densidades de plantas no ensaio, onde no nível de alta tecnologia se utilizou maior número de plantas (90.000 plantas ha⁻¹) quando comparado ao nível de média tecnologia (50.000 plantas ha⁻¹). Segundo Strieder (2006), o principal fator que influencia o diâmetro de colmo é a densidade de plantas. À medida que aumenta a densidade, aumenta também o número de plantas dominadas, caracterizadas por possuírem menor desenvolvimento e menor diâmetro de colmo. O adensamento também aumenta a competição intra-específica por luz, estimulando o estiolamento das plantas e a redução do diâmetro de colmo (SANGOI et al., 2002). O diâmetro de colmo não foi afetado significativamente pelo tratamento inoculação. Resultados similares foram obtidos por Farinelli et al. (2012), que também não encontraram diferenças significativas para diâmetro de colmo entre plantas de milho com e sem inoculação com *Azospirillum brasiliense*.

Tabela 10 - Diâmetro de colmo, percentagem de plantas de milho sem espigas e com duas espigas em função do nível de manejo, dose de N e inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Lages, SC, 2011/2012.

Tecnologia	Doses N (kg ha ⁻¹)	<i>Azospirillum</i>	Diâmetro	Plantas sem	Plantas com 2	
			Colmo	Espiga	espigas	
			(cm)	(%)	(%)	
Alta	0	Sem	2,0	1,8	0,4	
		Com	2,1	1,5	0,0	
	140	Sem	2,1	2,1	0,0	
		Com	2,1	2,5	0,8	
	280	Sem	2,1	0,00	1,3	
		Com	2,1	2,1	2,6	
	420	Sem	2,1	3,0	1,7	
		Com	2,4	1,3	2,3	
	Média (Alta Tecnologia)			2,1 b	1,8 b	1,1 b
	Média	0	Sem	2,4	2,9	1,5
Com			2,4	3,9	3,9	
65		Sem	2,4	3,8	7,0	
		Com	2,5	3,1	10,1	
130		Sem	2,6	5,4	9,4	
		Com	2,6	3,8	12,2	
195		Sem	2,7	7,7	18,5	
		Com	2,6	3,8	21,8	
Média (Média Tecnologia)			2,5 a	4,3 a	10,5 a	
Média Inoculação		Sem	2,3 A	3,3 A	5,0 A	
	Com	2,4 A	2,8 A	6,7 A		
CV (%)			9,0	40,2	24,0	

* Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

** Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Houve maior percentagem de plantas sem espiga e com duas espigas no nível médio do que no nível alto de manejo. A maior prolificidade do milho no nível médio de manejo está provavelmente relacionada à menor densidade de plantas utilizada neste sistema de cultivo, característica que favorece a emissão de uma segunda espiga. Por outro lado, também se observou no médio manejo maior quantidade de plantas sem espiga. Isto provavelmente se deve a característica genética da VPA SCS 155 Catarina. As VPAS apresentam grande variabilidade genética o que promove maior diversidade no fenótipo das plantas favorecendo a presença de indivíduos dominantes com duas espigas e de plantas sem espiga. A maior uniformidade morfológica e fenológica do híbrido simples utilizado no sistema de alto manejo contribuiu para reduzir a presença de plantas estéreis ou com duas espigas.

3.5.5 Altura de planta, inserção de espiga, plantas quebradas e acamadas

A altura de plantas e a altura de inserção de espiga não foram afetadas significativamente pelo nível de manejo e pela inoculação (Tabela 11), corroborando com resultados obtidos por Farinelli et al. (2012). Já a altura de inserção de espigas aumentou linearmente com o incremento na dose de N nas parcelas inoculadas tanto no alto quanto no médio manejo e nas não inoculadas no médio manejo (Figura 7).

Tabela 11 - Altura de planta, de inserção de espiga e percentagem de plantas de milho acamadas e quebradas em função do nível de manejo, dose de N e inoculação com *A. brasiliense*. Lages, SC, 2011/2012.

Tecnologia	Doses N (kg ha ⁻¹)	<i>Azospirillum</i>	Altura (m)	Inserção de Espiga (m)	Plantas Acamadas (%)	Plantas Quebradas (%)	
Alta	0	Sem	2,85	1,22	1,2	0,0	
		Com	2,65	1,19	1,2	0,0	
	140	Sem	3,07	1,50	1,5	0,0	
		Com	2,90	1,44	1,4	0,0	
	280	Sem	2,98	1,55	1,5	0,0	
		Com	3,06	1,58	1,6	0,0	
	420	Sem	2,99	1,66	1,6	0,4	
		Com	2,83	1,62	1,6	0,9	
	Média (Alta Tecnologia)			2,91 a*	1,47a	1,46 a	0,17 b
	Média	0	Sem	2,95	1,28	1,3	22,1
Com			3,09	1,39	1,4	29,6	
65		Sem	3,03	1,44	1,4	30,3	
		Com	3,27	1,53	1,5	21,1	
130		Sem	3,11	1,58	1,6	24,4	
		Com	3,23	1,60	1,6	18,9	
195		Sem	3,19	1,76	1,7	19,3	
		Com	3,18	1,75	1,7	18,8	
Média (Média Tecnologia)			3,13 a	1,54 a	0,69 ^a	23,08 a	
Média Inoculação		Sem	1,49 A	3,02 A	0,34 A	15,23 A	
		Com	1,51 A	3,02 A	0,50 A	13,87 A	
CV (%)			5,21	4,59	38,36	16,87	

* Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

** Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

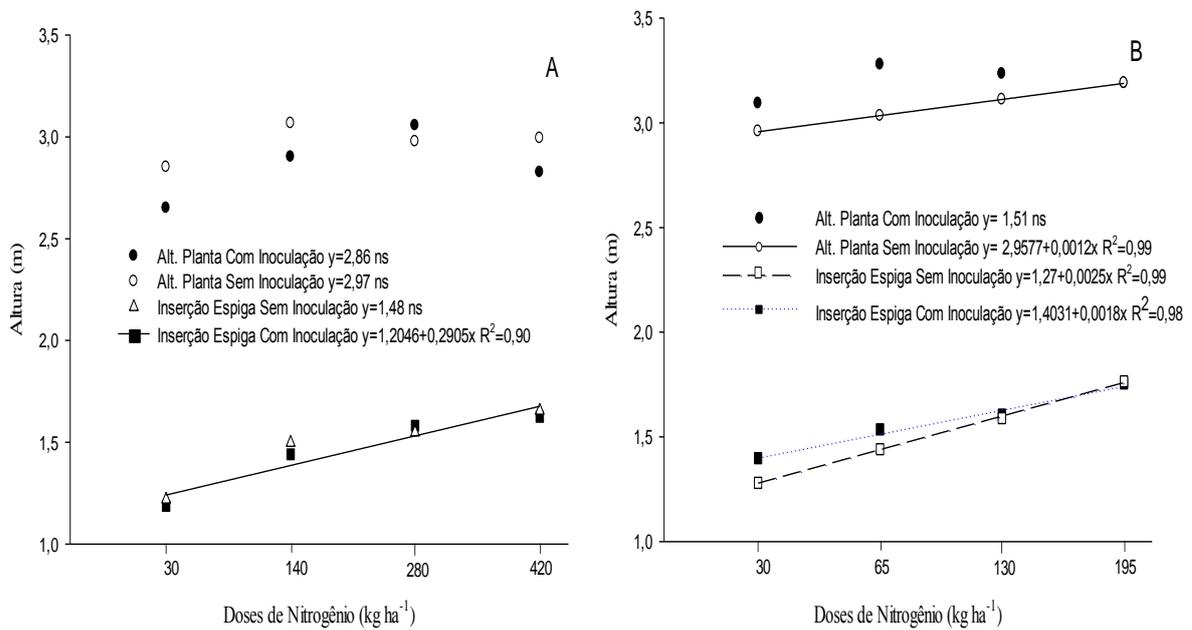


Figura 7 - Altura de plantas e inserção de espiga de milho em função da dose de N aplicada e da inoculação com *Azospirillum brasilense* no nível de manejo alto (A) e médio (B). Lages, SC, 2011/2012

As porcentagens de plantas acamadas e quebradas não foram significativamente afetadas pelo tratamento inoculação. Os valores de plantas acamadas foram similares nos dois sistemas de manejo. Já a porcentagem de plantas quebradas foi maior no nível médio de manejo, apesar de menor densidade adotada neste sistema de cultivo. Isto provavelmente se deve a maior fragilidade do colmo da VPA que favoreceu a sua quebra antes da colheita, dado já observado em outros trabalhos com esta variedade de polinização aberta (VIEIRA, 2012).

3.5.6 Rendimento de grãos e componentes do rendimento

O rendimento de grãos foi afetado significativamente pelo nível de manejo. Os maiores rendimentos foram alcançados no nível de alto manejo, independente da dose ou da inoculação (Tabela 12).

Tabela 12 - Rendimento de grãos e componentes de rendimento de milho em função do nível de manejo, dose de N e inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Lages, SC, 2011/2012.

Nível de manejo	Dose de N (kg ha ⁻¹)	<i>Azospirillum</i>	Rendimento de grãos (kg ha ⁻¹)	Espiga/Planta	Grãos/m ²	Massa mil grãos	Grãos/Espiga
Alto	0	Sem	8.344	1,03	2.848	293	440
		Com	9.063	0,98	2.933	309	442
	140	Sem	13.191	1,06	4.016	329	610
		Com	13.335	1,02	3.966	335	402
	280	Sem	16.444	1,01	4.577	359	656
		Com	15.873	1,04	4.281	371	627
	420	Sem	16.947	1,07	4.438	381	664
		Com	16.917	1,00	4.315	392	624
Médias do Alto Manejo			13.764 a*	1,02 a	3.922 a	346,65 a	558,74 a
Médio	0	Sem	7.403	1,05	2.047	360	525
		Com	5.986	0,99	1.623	366	441
	65	Sem	8.908	1,04	2.380	373	605
		Com	9.429	1,02	2.446	385	605
	130	Sem	9.275	1,03	2.471	374	642
		Com	9.684	1,02	2.447	397,	621
	195	Sem	9.306	0,94	2.221	420	510
		Com	9.609	0,93	2.392	403	548
Médias do Médio Manejo			8.700 b	1,00 a	2.253 b	385,23 b	562,70 a
Média	Sem	11.227,2 a		1,00 a	3.125 a	361,61 b	582,17 a
	Com	11.237,1 a		0,99 a	3.051a	370,20 a	562,29 a
CV (%)			8,34	5,73	8,96	4,38	9,40

* Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os componentes do rendimento que contribuíram para que o nível de alto manejo alcançasse maiores rendimentos foram o número de grãos produzidos por área e a massa de mil grãos. As maiores produtividades registradas no sistema de alto manejo decorreram do maior potencial produtivo do HS, em relação a VPA, da maior quantidade de fertilizantes aplicada na semeadura e em cobertura e da maior população de plantas adotada neste sistema de cultivo.

Não houve diferenças significativas no rendimento de grãos das parcelas inoculadas e não inoculadas. As parcelas inoculadas produziram grãos com maior massa do que as não inoculadas, na média das doses de N e dos níveis de manejo (Tabela 12). Embora não tenha alcançado significância estatística, a inoculação com *Azospirillum brasiliense* promoveu aumento de 8% no rendimento de grãos registrado no nível de alto manejo quando não se aplicou N em cobertura e de 1% na quando se utilizou metade da dose necessária para alcançar 18.000 kg ha⁻¹, não havendo contribuição para as doses mais altas. No nível médio de manejo houve incrementos numéricos no rendimento com a inoculação sempre que se

aplicou N em cobertura. Estes incrementos foram de 6% para a dose 0,5 de N, 4% para a dose 1,0 de N e de 3% para a dose 1,5. Estes resultados permitem especular que rendimento de grãos foi mais responsivo a inoculação com *Azospirillum brasiliense* no médio manejo nas menores doses de N mineral. Por outro lado, o rendimento de grãos deste sistema foi numericamente menor nas parcelas inoculadas do que nas não inoculadas quando não se aplicou nitrogênio em cobertura. Isto é um indicativo de que a inoculação com bactérias diazotróficas não deve ser utilizada isoladamente para atender a demanda nitrogenada do milho, corroborando as recomendações da empresa que comercializa o produto Masterfix utilizado no trabalho.

Nos dois níveis de manejo, o rendimento de grãos foi influenciado pelas doses de N em cobertura (Figura 8 e 9). No nível de manejo alto, o rendimento de grãos aumentou quadráticamente com os incrementos na dose de N tanto nas parcelas inoculadas quanto nas não inoculadas (Figura 8). Os maiores valores de rendimentos de grãos observados neste nível de manejo foram obtidos com a aplicação de 420 kg de N ha⁻¹ que viabilizou rendimentos de 16.904 kg ha⁻¹ nas parcelas inoculadas e 17.004 kg ha⁻¹ nas não inoculadas. Os pontos de máxima obtidos a partir da primeira derivada das funções quadráticas ajustadas aos dados foram obtidos com a aplicação de 440 kg de N ha⁻¹ nas parcelas inoculadas e 449 kg ha⁻¹ naquelas onde não se fez a inoculação.

No nível de manejo médio, o rendimento de grãos também aumentou quadráticamente com o incremento na dose de N nas parcelas inoculadas e não foi afetado pela aplicação de N em cobertura nas não inoculadas (Figura 9). O ponto de máxima da função quadrática nas parcelas inoculadas foi alcançado com a aplicação de 144 kg de N ha⁻¹. As respostas do rendimento de grãos a aplicação de N em cobertura foram menores no nível de manejo médio em função das menores produtividades registradas neste sistema de cultivo.

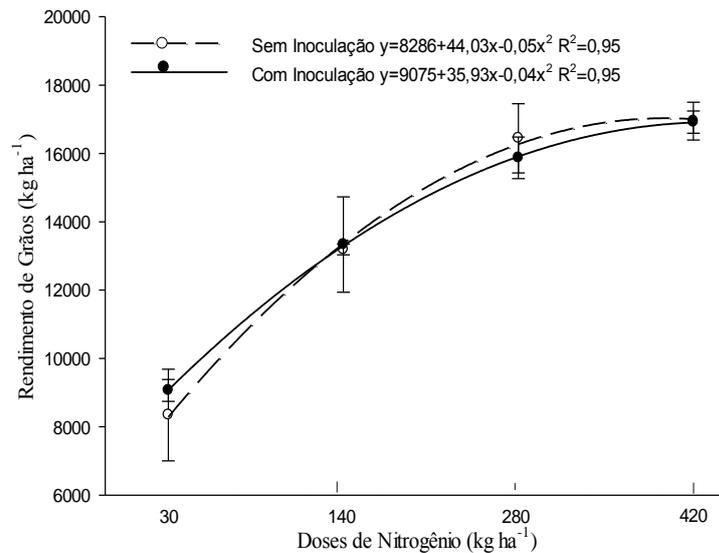


Figura 8 - Rendimento de grãos do milho em função da dose de N aplicada e da inoculação com *Azospirillum brasiliense* no nível de manejo alto. Lages, SC, 2011/2012.

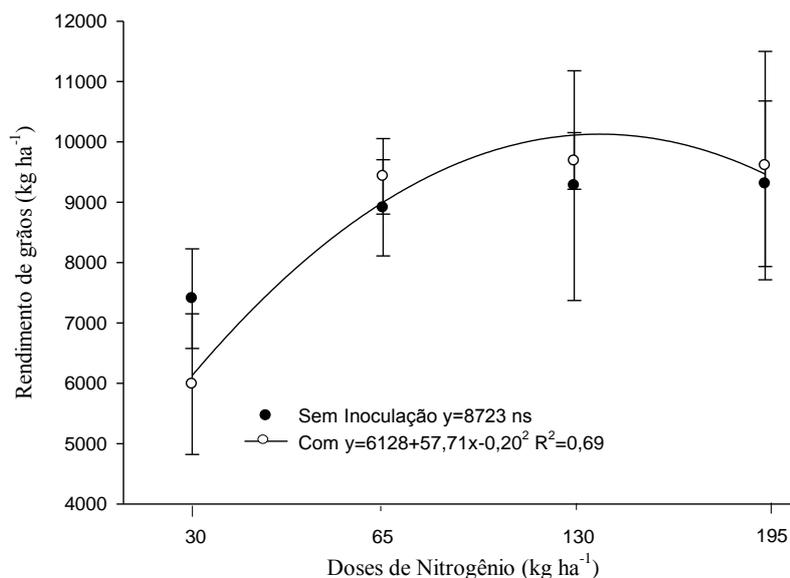


Figura 9 - Rendimento de grãos do milho em função da dose de N aplicada e da inoculação com *Azospirillum brasiliense* no nível de manejo médio. Lages, SC, 2011/2012.

Uma das hipóteses que motivaram a realização deste trabalho era de que a utilização de *Azospirillum* seria uma estratégia para suprir parte da demanda nitrogenada do milho, reduzindo a quantidade de fertilizante mineral aplicada na cultura para produtores com baixa capacidade de investimento em insumos. Outra hipótese era de que as bactérias diazotróficas poderiam contribuir para elevar o potencial produtivo do milho, em associação ao fertilizante nitrogenado mineral, para produtores com alta capacidade de investimento em manejo. Os dados das Figuras 8 e 9 não confirmaram estas hipóteses, pois não houve diferenças significativas entre parcelas inoculadas e não inoculadas quando não se utilizou N ou quando

se empregou metade da dose recomendada no sistema de médio manejo, nem tão pouco se constatou efeito benéfico da inoculação quando se empregou a dose cheia ou 1,5 vezes o valor necessário para obter 18.000 kg há⁻¹ no sistema de alto manejo.

Os resultados reportados na literatura sobre os efeitos do *Azospirillum brasiliense* no desempenho agrônômico do milho são bastante variados. Roesch et al. (2006) verificaram que a colonização de plantas de milho por bactérias diazotróficas foi inibida por altas doses de nitrogênio durante os primeiros estádios de crescimento. O efeito observado não é um efeito negativo direto sobre a bactéria, mas reside no fato de que o N pode alterar o estado fisiológico da planta e, por consequência, a sua associação às bactérias diazotróficas (REIS JÚNIOR et al., 2008).

Diversos autores também não encontraram diferença significativa entre plantas de milho inoculadas e não inoculadas com *Azospirillum* (VORPAGEL, et al 2010; ARF; et al; GUIMARÃES, et al; MÜLLER, et al 2012).

De acordo com Duarte et al (2012), os efeitos da adubação nitrogenada e da inoculação com *Azospirillum brasiliense* na nutrição e produtividade do milho dependem também do material genético utilizado. Os autores concluíram, ainda, que a inoculação pode aumentar a concentração foliar de N, mas não proporcionar a substituição parcial da adubação nitrogenada.

Godoy et al. (2011), apenas com inoculação *A. brasiliense*, não obteve incremento de produtividade. Campos et al. (2000), avaliando inoculantes a base de *Azospirillum spp.* na cultura do milho em condições de campo, também não encontraram diferenças estatísticas para número de plantas, número de espigas, estatura de plantas e rendimento de grãos.

De modo contrário, Cavallet et al. (2000), obtiveram ganhos de produtividade na ordem de 17% e 9%, respectivamente, com o uso da bactéria *Azospirillum spp.* em milho. Salomone & Döbereiner (1996) e Okon & Vanderleyden (1997) também encontraram aumentos de produtividade com a inoculação de *Azospirillum spp.* em diversas condições de cultivo oriundos, provavelmente, dos efeitos benéficos dessas bactérias na fixação biológica de nitrogênio.

Hungria (2010) encontrou incrementos de 443 a 823 kg ha⁻¹ entre tratamentos com e sem inoculação. Farinelli et al (2012) encontraram diferenças significativas testando inoculação e diferentes doses de nitrogênio, sendo a maior produtividade alcançada quando utilizou-se inoculante com uma dose de 120 kg ha⁻¹ de N. Roesch (2007) concluiu em seu estudo que influências geográficas e ambientais podem gerar associações diferentes entre

bactérias diazotróficas endofíticas e plantas de milho, ocasionando resultados bastante variáveis em relação à inoculação.

Hungria et al. (2010) relata que apesar de muitos experimentos com fertilização nitrogenada conduzirem para produtividades superiores quando comparado ao uso da inoculação de bactérias diazotróficas como o *A. brasilense*, isto não reduz o potencial de seu uso.

O número de grãos produzidos por m^{-2} aumentou de forma quadrática com o incremento na dose de N tanto nas parcelas inoculadas quanto nas não inoculadas, nos dois níveis de manejo (Figura 10). Por outro lado, o número de grãos produzidos por espiga não foi afetado significativamente pela dose de nitrogênio em nenhum dos níveis de manejo ou inoculação, conforme pode se observar na Figura 11.

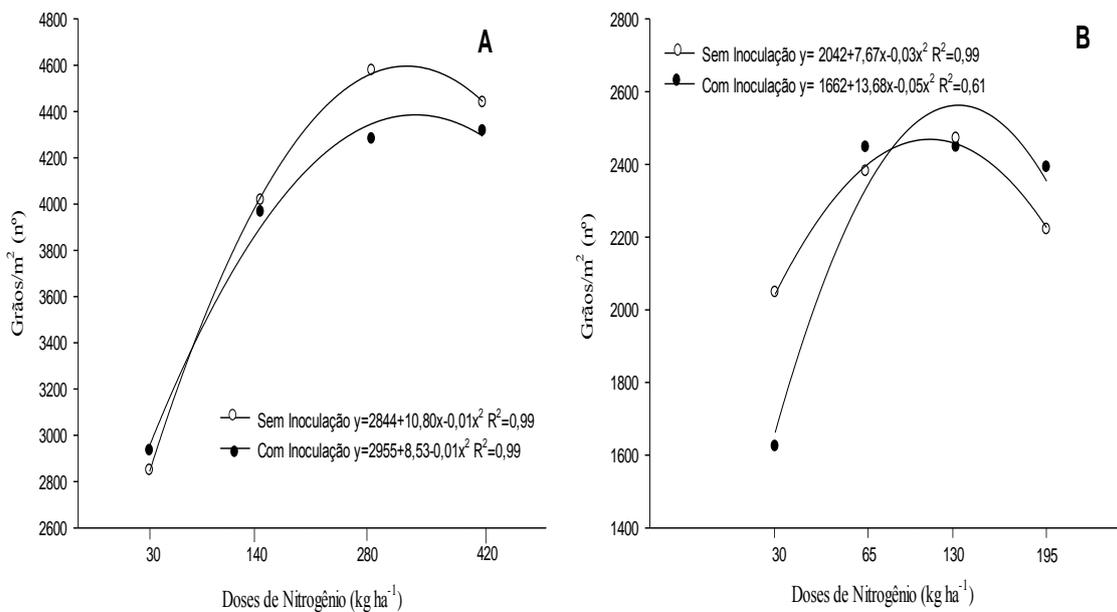


Figura 10 - Número de grãos de milho por m^{-2} em função da dose de N aplicada e da inoculação com *Azospirillum brasilense* no nível de manejo alto (A) e médio (B). Lages, SC, 2011/2012.

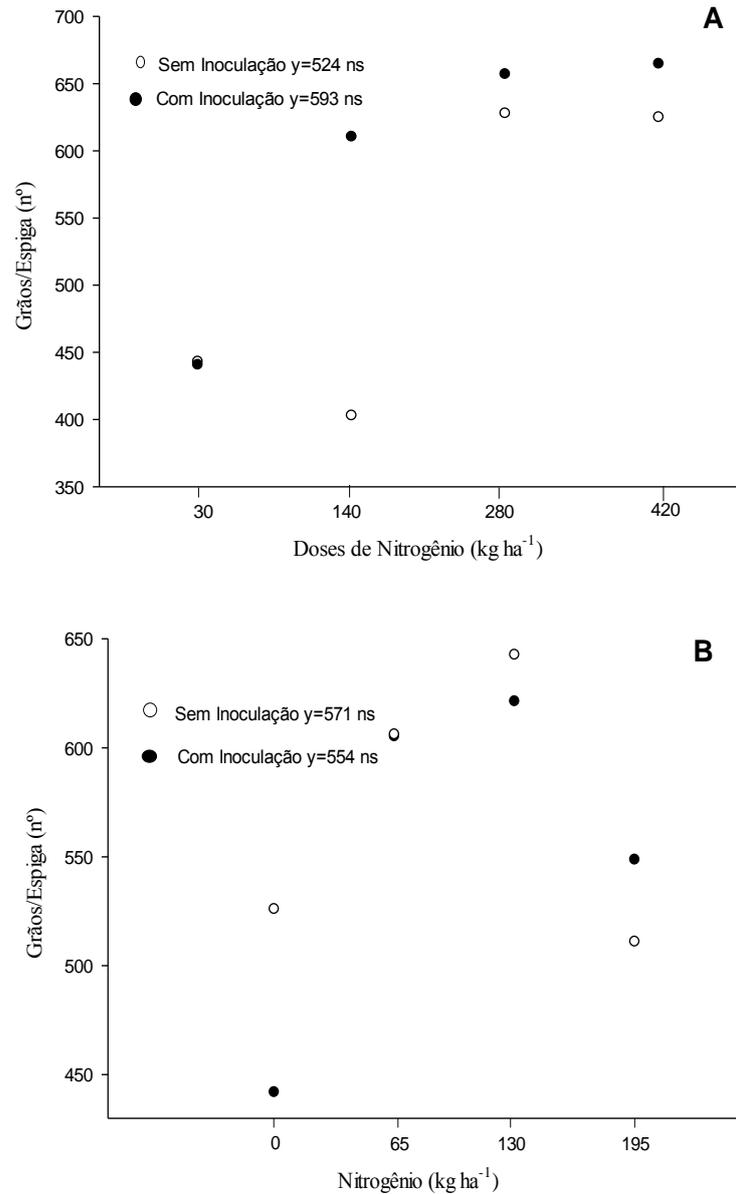


Figura 11 - Número de grãos de milho por espiga em função da dose de N aplicada e da inoculação com *Azospirillum brasilense* no nível de manejo alto (A) e médio (B) Lages, SC, 2011/2012.

No nível de manejo alto, houve incremento linear na massa de 1.000 grãos com o aumento na dose de N tanto nas parcelas inoculadas quanto nas não inoculadas (Figura 12A). Este incremento foi de 0,2 g por kg de N aplicado em cobertura. No nível de manejo médio, os grãos tiveram aumento quadrático na sua massa com o incremento na dose de N apenas nas parcelas inoculadas com *Azospirillum brasilense* (Figura 12B).

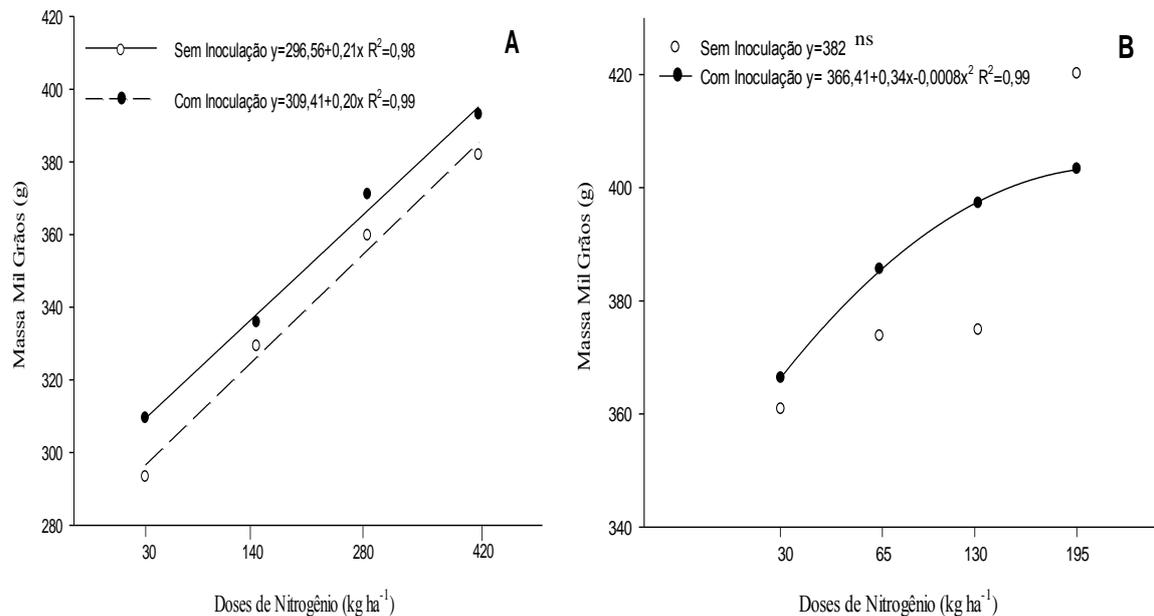


Figura 12 - Massa de mil grãos de milho em função da dose de N aplicada e da inoculação com *Azospirillum brasiliense* no nível de manejo alto (A) e médio (B) Lages, SC, 2011/2012.

3.5.7 Percentagem de grãos ardidos

A incidência de grãos ardidos não foi afetada pelos níveis de manejo, embora os valores numéricos para o nível médio tenham sido maiores do que para o nível alto (Tabela 13). Ribeiro et al (2005), trabalhando com diferentes sistemas de manejo de milho, observaram maior percentagem de grãos ardidos em doses menores de nitrogênio.

A percentagem de grãos ardidos foi maior quando as plantas foram inoculadas do que nas parcelas sem inoculação, na média dos níveis de manejo e das doses de N. Dalla Santa et al (2004) também verificou uma maior porcentagem de grãos ardidos em plantas inoculadas em detrimento ao controle sem inoculação.

Tabela 13 - Percentagem de grãos ardidos de milho em função do nível de manejo, dose de N e inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Lages, SC, 2011/2012.

Tecnologia	Doses N (kg ha ⁻¹)	<i>Azospirillum</i>	Grão Ardido (%)	
Alta	0	Sem	3,7	
		Com	8,0	
	140	Sem	3,2	
		Com	5,5	
	280	Sem	3,5	
		Com	3,8	
	420	Sem	4,1	
		Com	2,8	
	Média (Alta Tecnologia)			4,36 a*
	Média	0	Sem	4,5
Com			7,2	
65		Sem	4,9	
		Com	9,9	
130		Sem	2,5	
		Com	4,3	
195		Sem	2,8	
		Com	11,3	
Média (Média Tecnologia)			5,94 a	
Média Inoculação		Sem	3,67 B	
		Com	6,62 A**	
CV (%)			23,37	

* Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

** Médias seguidas por mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Em relação às doses de nitrogênio, observou-se um decréscimo linear na percentagem de grãos ardidos com o incremento na dose de N nas parcelas inoculadas com *Azospirillum brasiliense* do nível alto de manejo (Figura 13A). Dalla Santa et al. (2004) também constaram que conforme o nível de nitrogênio aplicado no milho era aumentado, diminuía-se a porcentagem de grãos ardidos. Para o nível de alta tecnologia sem inoculação e média com e sem inoculação as equações de regressão não foram significativas.

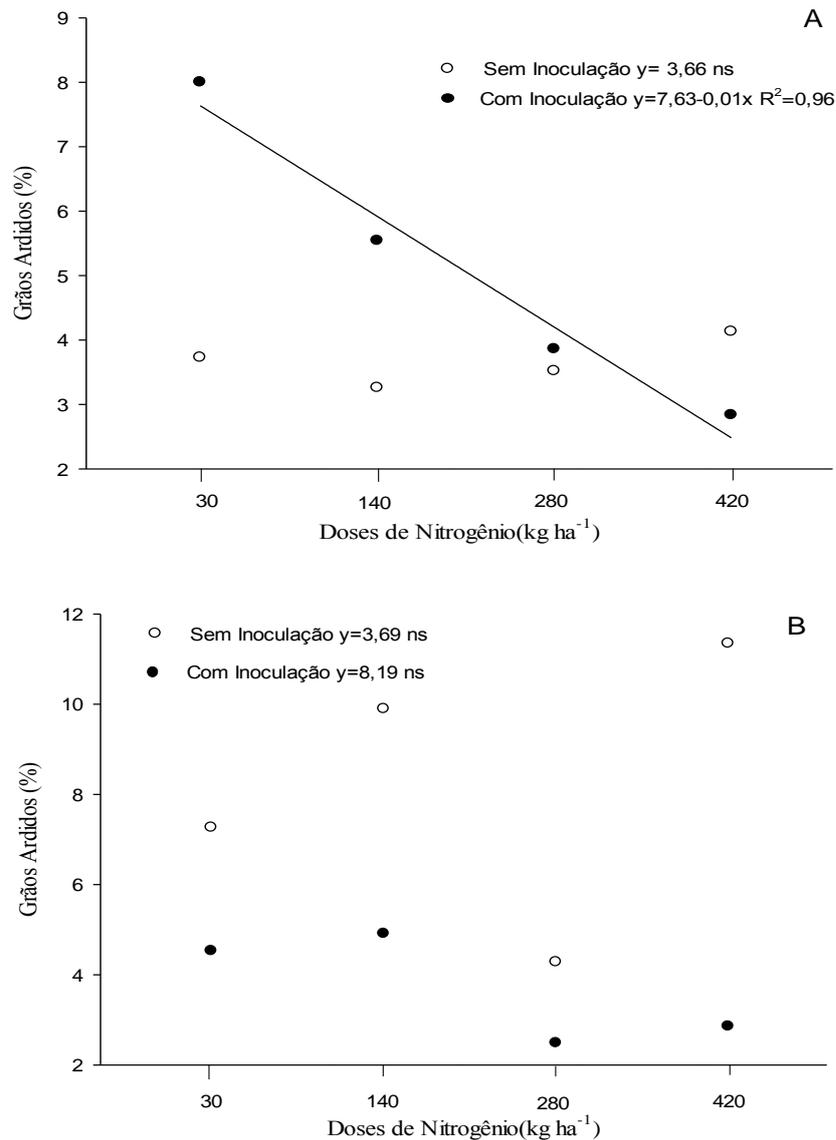


Figura 13 - Porcentagem de grãos ardidos de milho em função da dose de N aplicada e da inoculação com *Azospirillum brasilense* no nível de manejo alto (A) e médio (B). Lages, SC, 2011/2012.

3.5.8 Eficiência agrônômica de uso do nitrogênio (EUN)

No sistema de alto manejo, a eficiência agrônômica de uso do nitrogênio diminuiu quadráticamente com o incremento na dose de N, tanto nas parcelas inoculadas quanto nas não inoculadas. (Figura 14). Júnior et al. (2011), testando eficiência de fontes de adubação nitrogenada com polímeros para liberação lenta de nitrogênio, na redução de perdas de N na forma de nitrato, também verificaram redução na EUN na com o aumento da dose aplicada, em sintonia com a lei dos rendimentos decrescentes.

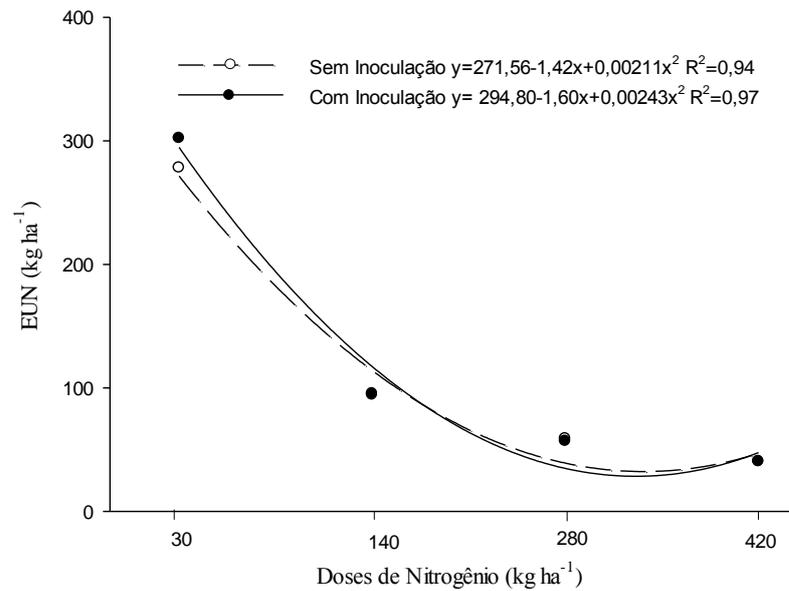


Figura 14 - Eficiência de uso do nitrogênio no milho no nível de manejo alto com e sem *Azospirillum brasiliense*. Lages, SC, 2011/2012.

No nível de manejo médio a eficiência de uso do nitrogênio decresceu linearmente com o aumento da dose de N nas parcelas inoculadas e de forma quadrática nas não inoculadas (Figura 15). Assim, observou-se que tanto os tratamentos com inoculação quanto nos sem inoculação houve decréscimo na EUN em função do aumento das doses de nitrogênio, sendo os tratamentos mais eficientes no uso do nitrogênio quando não houve aplicação de N em cobertura e apenas foi utilizado a dose de 30 kg ha⁻¹ na semeadura.

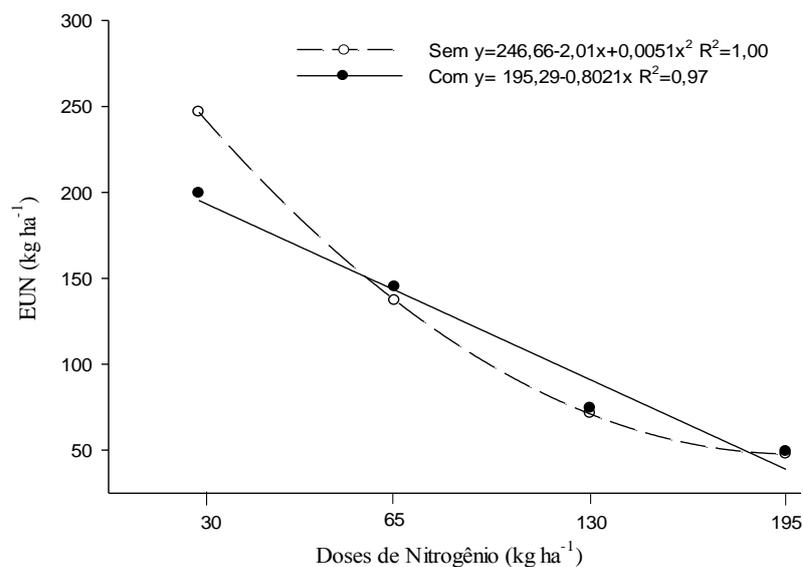


Figura 15 - Eficiência de uso do nitrogênio no milho na média do nível de média tecnologia com e sem *Azospirillum brasiliense*. Lages, SC, 2011/2012.

A Tabela 14 apresenta os dados de EUN de acordo com o nível de manejo, dose de N e inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Pode-se verificar que não houve diferença significativa entre níveis de manejo, bem como não houve diferença significativa para o fator inoculação. A EUN apenas diferiu significativamente para as doses de nitrogênio, apresentando maior valor na dose 0 em ambos os níveis de manejo e decrescendo com o aumento da doses, conforme já observado nas Figuras 14 e 15. Como não houve diferença significativa quando se comparou as parcelas inoculadas com as não inoculadas, não é possível afirmar que a bactéria diazotrófica *Azospirillum brasiliense* promoveu melhor eficiência no uso de nitrogênio.

Tabela 14 - Eficiência do uso de nitrogênio no milho em função do nível de manejo, dose de N e inoculação com *Azospirillum brasiliense*. Lages, SC, 2011/2012.

Tecnologia	Doses N	<i>Azospirillum</i>	EUN (kg)
Alta	0	Sem	278,1
		Com	302,1
	140	Sem	94,2
		Com	95,2
	280	Sem	58,7
		Com	56,7
	420	Sem	40,3
		Com	40,2
Média (Alta Tecnologia)			120,72 ^{ns}
Média	0	Sem	246,7
		Com	199,5
	65	Sem	137,0
		Com	145,0
	130	Sem	71,3
		Com	74,5
	195	Sem	47,7
		Com	49,2
Média (Média Tecnologia)			121,4 ^{ns}
Média Inoculação	Sem	121,8 ^{ns}	
	Com	120,3	
CV (%)			13,40

^{ns} Não diferem significativamente pelo teste F (P<0,05).

3.6 Conclusões

O tratamento de sementes com *Azospirillum brasiliense* não aumenta o rendimento de grãos do milho quando não se aplica nitrogênio em cobertura no sistema de médio manejo.

Portanto, não é possível afirmar que se pode substituir parte da adubação de cobertura pela fixação biológica de nitrogênio em cultivos comerciais de milho.

O tratamento de sementes com *Azospirillum brasiliense* não possibilita maior produtividade do milho do que os alcançados apenas com adubação nitrogenada em sistemas de alto manejo.

O tratamento de sementes com *Azospirillum brasiliense* não promove incrementos consistentes no rendimento de grãos do milho e nem possibilita maior eficiência de uso do N tanto no sistema de médio quanto de alto manejo.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum brasiliense*, que podem se associar endofiticamente a várias espécies de gramíneas e são capazes de auxiliar no seu crescimento e desenvolvimento pela disponibilização de nutrientes, tem sido proposta como uma estratégia para auxiliar a atender a demanda nitrogenada do milho.

O presente trabalho foi proposto com base nas hipóteses de que a inoculação com *Azospirillum brasiliense* pode ser uma forma viável de substituição de parte da adubação nitrogenada para produtores com baixa capacidade de investimento; e de que a inoculação com *Azospirillum brasiliense* pode ser uma ferramenta útil para o aumento de produtividade, complementando a fertilização nitrogenada mineral, nos sistemas de alto manejo.

Tanto os resultados obtidos no experimento conduzido em casa de vegetação quanto no experimento de campo não confirmaram estas hipóteses. No trabalho de casa de vegetação especulava-se que a inoculação com *Azospirillum brasiliense* acelerasse a velocidade de crescimento inicial, incrementando a produção de fitomassa nas primeiras etapas do ciclo do milho, o que não se evidenciou. No experimento de campo houve para alguns tratamentos incrementos numéricos no rendimento das parcelas inoculadas, em relação às não inoculadas, tanto no sistema de médio quanto no de alto manejo. Contudo, as respostas não foram consistentes e nem tão pouco significativas estatisticamente.

Deve-se destacar que os resultados do presente trabalho refletem o comportamento do ano agrícola 2011/2012 e que as respostas do rendimento de grãos do milho à inoculação com bactérias diazotróficas reportadas na literatura são bastante variáveis. Em função disto, o experimento está sendo repetido no ano agrícola 2012/2013 para aferir com maior acuidade o potencial do *Azospirillum brasiliense* para atender isoladamente ou em associação com a fertilização mineral a demanda nitrogenada da cultura do milho em diferentes níveis de manejo.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARF, M.V., SILVA D. C., CALCANHO R. S., BATISTA, M.S., FONTOURA, V.M.F. Produtividade do Milho Cultivado no Verão em Função de Doses de Nitrogênio e Inoculação ou Não com *Azospirillum Brasilense*. In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2012. p. 1575-1580.
- 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**, Campinas, v.13, n.2, p.158-167, 2001.
- BARASSI, C.A.; SUELDO, R.J.; CREUS, C.M.; CARROZZI, L.E.; CASANOVAS, W.M.; PEREYRA, M.A. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. ***Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina***. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.49-59.
- BERGAMASCHI, C. **Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo**. 2006. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.
- BERGAMASCHI, H. **Fenologia**. Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia – Disciplinas de Graduação – Relações Clima Planta. Porto Alegre: UFRGS. Disponível em <<http://www.ufrgs.br/agropfagrom/disciplinas/502/fenolog.doc/2006>>. Acesso em: 10 Ago. 2012.
- BERLATO, M.A.; MATZENAUER, R. Teste de um modelo de estimativa do espigamento do milho com base na temperatura do ar. **Agronomia Sul Riograndense**, Porto Alegre, v.22, p. 243-259, 1986.
- BISOGNIN, D. A.; COIMBRA, J.L.M.; GUIDOLIN, A.F. Potencial de variedades de polinização aberta de milho em diferentes condições adversas de ambiente. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v.3, p. 29-34, 1997.
- BORRÁS, L.; MADDONI, G.; OTEGUI, M. E. Leaf senescence in maize hybrids: plant population, row spacing and kernel set effects. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.82, p. 13-26, 2003.
- BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R. Identification of gibberelins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *A. lipoferum*. **Plant Physiology**, Waterbury, v.90, p.45-47, 1989.
- BRASIL. Portaria nº 11 de 12 de abril de 1996. Estabelece critérios complementares para classificação do milho. **Diário Oficial da União**, Brasília, nº 72, 1996.
- CAMPOS, B. H. C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. Avaliação de inoculante Graminante na cultura do milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 4, p. 713-715, 2000.

CASA, R.T.; BLUM, M.M.C.; FONTOURA, S.M.V. Efeito do pré-cultivo de aveia branca e nabo forrageiro sobre a incidência de podridões do colmo, de grãos ardidos, de fungos nos grãos e sobre o rendimento de grãos de diferentes híbridos de milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.31, p. 241-246, 2005.

CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. 95 p.

CATTELAN, A.J.; HARTEL, P.G. Traits associated with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). **Tópicos em Ciência do Solo**, Campinas, v.1, p. 213-234, 2000.

CAUSSE, M. ROCHER, J., PELLESCI, S., Sucrose phosphate synthase: an enzyme with heterotic activity correlated with maize growth. **Crop Science**, Madison, v.35, n.4, p.995-1011, 1995.

CAVALLET, L.E.; PESSOA, A.C.S.; HELMICH, J.J.; HELMICH, P.R.; OST, C.F. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.4, n.1, p.129-132, 2000.

CEPA, (Centro de Socioeconomia e Planejamento Agrícola). Síntese anual da agricultura de Santa Catarina 2011/2012. **Tabelas de produção**. 2012. Disponível em: <<http://cepa.epagri.sc.gov.br/>>. Acesso em: 12 abr. 2012.

COELHO, A. M.; CRUZ, J. C.; PEREIRA F, I. A. Desafios para obtenção de altas produtividades de milho. In: **XXV Congresso nacional de milho e sorgo**, 2004, Cuiabá. Palestras. Cuiabá: ABMS: Embrapa Milho e Sorgo: Empaer, 2004.

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E.; PITTA, G.V.E.; ALVES, V. M. C.; HERNANI, L. C. **Cultivo de Milho**. Sete Lagoas, EMBRAPA, 2000. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/feraduba.htm>. Acesso em 08 jun. 2012.

CONAB, (Companhia Nacional de Abastecimento). Acompanhamento de safra brasileira: grãos. **Décimo segundo levantamento**, Brasília, 2012a. 29 p.

CONAB, Rendimento de Milho por Estado. **Safra Total, 2011-2012**. Disponível em: <http://cimilho.cnpms.embrapa.br/estatisticas>. Acesso em: 15 ago. 2012b.

CONCEIÇÃO, P.M.; VIEIRA, H.D.; CANELLAS, L.P.; JÚNIOR, R.B.M; OLIVARES, F.B. Recobrimento de sementes de milho com ácidos húmicos e bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.43, n.4, p.545-548, 2008.

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

CRUZ, J.C.; QUEIROZ, L.R.; PEREIRA FILHO, I.A. **Milho - Cultivares para 2012/2013**. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/>. Acesso: 06 dez 2012.

DALLA SANTA, O. R.; SOCCOL, C. R.; JUNIOR P. R.; HERNÁNDEZ R. F.; ALVAREZ, G. L. M.; DALLA SANTA, H. S.; PANDEY, A. Effects of inoculation of *Azospirillum sp.* in maize seeds under field conditions. **Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v.2, n. 1, p. 238-242, 2004.

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

DÍAZ-ZORITA, M. Avaliação da produção de milho (*Zea Mays L.*) inoculado com *Azospirillum brasiliense* na Argentina. In: **Diversidade e inovações na cadeia produtiva de milho e sorgo na era dos transgênicos**. Instituto Agronômico de Campinas. Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2012. p. 529-536.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGHS, A.; THYS, A.; BROEK, A.V.; VANDERLEYDEN, J. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. **Plant and Soil**, Netherland, v.212, p.153–162, 1999.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGHS, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; DUTTO, P.; LABANDERA-GONZALEZ, C.; CABALLERO-MELLADO, J.; AGUIRRE, J.F.; KAPULNIK, Y.; BRENER, S.; BURDMAN, S.; KADOURI, D.; SARIG, S.; OKON, Y. Response of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Aust. J. Plant Physiology**, Waterbury v. 28, p.871-879, 2001.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Science**, Elsevier, v. 22, p. 107-149. 2003.

DRANSKI, J.A.L.; PINTO-JUNIOR, A. S.; FRANDOLOSO, J.; GUIMARÃES, V.F.; RENAN FELIPE BELLÉ, R.F.; RODRIGUES, L.F.O.S.; DARTORA, J.; STETS, M.I.; ARAUJO, L.M.; CRUZ, L.M.; POZZEBOM, W. Desenvolvimento Inicial de Plantas de Milho em Função da Inoculação das Sementes com Diferentes Volumes de Inoculante. In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2012. p. 226-232.

DUARTE, A. P., PIEDADE R.C., MARTINS, V.C., e Heitor CANTARELLA, H., BARROS, V.L.N.P. Resposta de Cultivares de Milho ao Nitrogênio em Cobertura e à Inoculação com *Azospirillum*. In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2012. p. 1786-1792.

DWYER, L.M.; ANDERSON, A.M.; MA, B.L.; STEWART, D.W.; TOLLENAAR, M. e GREGORICH, E. Quantifying the nonlinearity in chlorophyll meter response to corn leaf nitrogen concentration. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 75, 179-182, 1995.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Brasília, 2006. 306 p.

EPAGRI. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. **Folheto Indicações Técnicas**. Informativo, 2011.

FAGERIA, N. K. ; BALIGAR, V C ; CLARK, R B . **Physiology of Crop Production**. New York: The Haworth Press, 2006. 345p .

FALLIK, E.; OKON, Y.; EPSTEIN, E.; GOLDMAN, A.; FISHER, M. Identification and quantification of IAA and IBA in *Azospirillum brasilense* inoculated maize roots. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 21, n. 2, p. 147-153, 1988.

FANCELLI, A.L. & DOURADO NETO, D. **A produção de milho**. Guaíba: Guaíba Agropecuária, 2000. 365 p.

FARINELLI, R., HANASHIRO, R. K., AMARAL, C. B., FILHO, D. F. Resposta da Cultura do Milho à Inoculação de Sementes e Adubação Nitrogenada em Cobertura. In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2012. p. 1672-1678

GODOY, J.C.S; WATANABE, S.H.; FIORI C.C.L.; GUARIDO, R.C. Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio com e sem inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. **Campo Digital**, Campo Mourão, v.6, n.1, p.26-30, 2011.

GONÇALVES, E.D.V.; RODRIGUES, L.F.O.S.; SILVA, M.B.; MATIELLO, V.M.; BERTÉ, L.N.; MEINERZ, C.C.; GUIMARÃES, V.F. Influência Da Inoculação de *Azospirillum brasilense* em Milho Submetido a Condições de Déficit Hídrico. In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2012. p. 0267-0274.

GUIMARÃES, V.F., JUNIOR, A.S.P, OFFEMANN, L.C., RODRIGUES, F.O.S., KLEIN, J., INAGAKI, A.M., POZZEBOM, W., DIAMANTES, M.S., BULEGON, L.G., BELLÉ, R.F., COSTA, A.C.P.R. Componentes de Produção e Produtividade do Híbrido de Milho 30F53H Inoculado com as Estirpes Ab-V5 e Ab-V6 da Bactéria *Azospirillum brasilense*. In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2012. p.1542-1547.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasiliense*: inovação em rendimento a baixo custo**. 1ª ed. Londrina: Embrapa Soja, 2011. (Documento 325)

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M. S.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.

IBGE, **Censo Agropecuário 2006 Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação**. 2006. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil_2006/Brasil_censoagro2006.pdf. Acesso 28 Set 2012.

JORDÃO, L. T.; LIMA, F. F.; LIMA, R. S.; MORETTI, P. A. E. M.; PEREIRA, H. V.; MUNIZ, A. S.; OLIVEIRA, M. C. N.. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum brasiliense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. In: Reunião Brasileira De Fertilidade Do Solo E Nutrição De Plantas, 29 Reunião Brasileira

Sobre Micorrizas, 13 Simpósio Brasileiro De Microbiologia Do Solo, 11 Reunião Brasileira De Biologia Do Solo, 2010, Guarapari. **Anais...** Viçosa: SBCS, 2010. p.4.

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

LAMBRECHT, M., OKON, Y., VANDE BROEK, A., VANDERLEYDEN, J. Indole-3-acetic acid, a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interaction. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 8 , p. 298-300, 2000.

LARA CABEZAS, W. A. R.; TRIVELIN, P. C. O.; KORNODÔRF, G. H.; PEREIRA, S. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto no Triângulo Mineiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 14, p. 363-376, 2000.

LIN, W.; OKON, Y.; HARDY, R.W.F. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.45, p.1775-1779, 1983.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas, princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: Editora Potafós, 1997. 319p.

MARIANO, E.; COSTA, H. T.; CORRALES, R. A. F. **Uréia: novas tecnologias para fertilizantes nitrogenados**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2011.

MÜLLER, T. M., BAZZANEZI, A. N., VIDAL V., TUROK J. D. N., RODRIGUES J. D., SANDINI I. E. Inoculação de *Azospirillum* brasilense no Tratamento de Sementes e Sulco de Semeadura na Cultura do Milho. . In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, 2012. p. 1537-1541.

NESMITH, D. S. & RITCHIE, J. T. Short – and long – term responses of corn to a pre anthesis soil water deficit. **Agronomy Journal**., Madison, v.84, p. 107-113. 1992.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C.A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation **Soil Biology & Biochemistry**, Ireland, v.26, p.1591-1601, 1994.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants, **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v.63, n.7, p.366-370, 1997.

OLIVEIRA, A. L. M. de; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal**. Seropédica: CNPAB. 40 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 161). 2003.

PANG, X. P.; LETEY, J.; WU, L. Irrigation quality and uniformity and nitrogen application effects on crop yield and nitrogen leaching. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 61, p. 257-261, 1997

- PATERNIANI, E.; CAMPOS, M. S. Melhoria do milho. In. BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. p. 429-485.
- PEOPLES M.B., HERRIDGE D.F., LADHA J.K. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 174, p. 3-28, 1995.
- PORTUGAL, J.R., ARF, O., LONGUI, W.V., GITTI, D.C., BARBIERI, M.K.F., GONZAGA, A.R., TEIXEIRA, D.S. Inoculação com *Azospirillum brasilense* Via Foliar Associada à Doses de Nitrogênio em Cobertura na Cultura do Milho. . In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2012. p.1413-1417.
- PRAKAMHANG, J.; MINAMISAWA, K.; TEAMTAISONG, K.; BOONKERD, N.; TEAUMROONG, N. The communities of endophytic diazotrophic bacteria in cultivated Rice (*Oryza sativa* L.) **Applied Soil Ecology**, Ireland, v. 42 , p.141–149 , 2009.
- QUADROS, P. D. **Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul. 2009**. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/17076/000705543.pdf?sequence=1>>. Acesso em 18 dez 2012.
- RAIJ, B. VAN.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo, 1996. 285 p.
- RAMBO, L.; SILVA, P. R. F.; ARGENTA, G.; SANGOI, L. Parâmetros de plantas para aprimorar o manejo da adubação nitrogenada de cobertura em milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.5, p.1637-1645, 2004.
- REIS JUNIOR, F. B.; TOLEDO, C. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 1139-1146, 2008.
- REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Review in Plant Sciences**, Amsterdam, v. 19, n. 3, p. 227-247, 2000.
- RIBAUDO, C.M.; RONDANINI, D.; CURA J.A.; FRASCHINA A. Response of *Zea mays* to the inoculation with *Azospirillum* on nitrogen metabolism under greenhouse conditions. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 44, p. 631-634, 2001.
- RITCHIE, S. W. et al. **How a corn plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, Special Report, v. 48, 1993. 26 p.
- ROCHER, J.P. et al. Genetic variability in carbon fixation, sucrose-P-synthase and ADP glucose pyrophosphorylase in maize plants of differing growth rate. **Plant Physiology**, Lancaster, v.89, n.2, p. 416-420, 1989.

RODRIGUES, L.S.; BALDANI, V.L.D.; REIS, V.M.; BALDANI, J.I. Diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia* na cultura do arroz inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41. n. 2. p. 275-284, 2006.

ROESCH, L. F. W.; OLIVARES, F. L.; PASSAGLIA, L. P. M.; SELBACH, P. A.; SÁ, E. L. S de; CAMARGO, F. A. O. Characterization of diazotrophic bacteria associated with maize: effect of plant genotype, ontogeny and nitrogen-supply. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v. 22, n. 9, p. 967-974, 2006.

ROOD, S.B. et al. Gibberellins and heterosis in maize quantitative relationships. **Crop Science**, Madison, v.30, n.1, p.281-286, 1990.

RURAL, G. **Desvio do milho para produção de combustíveis divide opiniões nos Estados Unidos**. <http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2012/04/desvio-do-milho-para-producao-de-combustivel-divide-opinioes-nos-eua.html>. Acesso em: 18 set. 2012.

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

SANGOI, L.; ALMEIDA, M.L.; SILVA, P.R.F. Bases morfofisiológicas para maior tolerância dos híbridos modernos de milhos a altas densidades de plantas. **Bragantia**, Campinas, v. 61, n. 2, p. 101-110, 2002.

SANGOI, L.; ENDER, M. GUIDOLIN, A.F. Incidência e severidade de doenças de quarto híbridos de milho cultivados com diferentes densidades de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 17-21, 2000.

SANGOI, L.; SILVA, P. R. F.; ARGENTA, G., RAMBO, L. **Ecofisiologia da cultura do milho para altos rendimentos**. Lages: Graphel, 2010. 32p.

SANTOS, H P. **Eficiência de soja cultivada em modelos de produção sob sistema plantio direto**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2005. 248 p.

SCHMITT A., SANGOI L., VIEIRA J., PICOLI G. J. J., COSTA T. E., MARIANNO F. H. F. , GIORDANI W., SCHENATTO D., MACHADO G. C., BONIATTI C., FERREIRA M. A., GIRARDI D., BIANCHET P. Incremento na densidade de plantas como estratégia para potencializar o rendimento de grãos do milho. Resumos expandidos. In: VIII Reunião técnica catarinense de milho e feijão – II seminário estadual sobre a cultura do milho, 2011. Chapecó. **Anais...**Chapecó: Unochapecó, 2011. p.38-39.

SILVA, E.D.; BUZETTI, S.; LAZARINI, E. Aspectos econômicos da adubação nitrogenada na cultura do milho em sistema de plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, p. 286-297, 2005.

STRIEDER, M. L.; SILVA, P. R. F.; SANGOI, L. A resposta do milho irrigado ao espaçamento entrelinhas depende do híbrido e da densidade de plantas. **Ciência Rural**. Santa Maria, p. 43-47, 2006.

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

TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

THORNTHWAITE, C.W.; MATHER, J.R. **The water balance Publications in Climatology**. New Jersey: Drexel Institute of Technology, 1955. 104p.

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

TOLLENAAR, M. Is low plant density a stress in maize? **Maydica**, Ames, v. 37, p. 305-311, 1992.

TOLLENAAR, M.; WU, J. Yield improvement in temperate maize is attributable to greater stress tolerance. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1597-1604, 1999.

TRENTO, S.M., IRGANG, H.H. & REIS, E.M. Efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência de grãos ardidos em milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 609-613, 2002.

USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE), World corn supply and use. **World agricultural supply and demand estimates**. Disponível em: <<http://usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>> Acesso em: 21 ago. 2012.

VIEIRA, J. **Tolerância à desfolha em diferentes estádios fenológicos de cultivares de milho com bases genéticas contrastantes**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Área: Fisiologia e Manejo de Plantas) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2012. 83 p.

VIEIRA, J.; SANGOI, L.; SCHMITT, A.; MARASCHI-SILVA, L. M.; MOTA, M.R.; SCHENATTO, D.E.; GIORDANI, W.; BONIATTI, C.M.; MACHADO, G.M. Variabilidade Genética de Cultivares de Milho e Tolerância a Desfolha em Diferentes Estádios Fenológicos. In: **XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, Águas de Lindóia, 2012. Anais...Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2012. p. 2479-2485

VORPAGEL, A. G. **Inoculação de *Azospirillum*, isolado e associado à bioestimulante, em milho, no noroeste do RS**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, RS, 2010.