



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS  
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: IRRIGAÇÃO E DRENAGEM**



**TESE DE DOUTORADO**

***AZOSPIRILLUM BRASILENSE* COMO ATENUANTE DO EFEITO DA  
SALINIDADE EM MILHO IRRIGADO**

**HALLYSON OLIVEIRA**

**Campina Grande – PB  
Setembro de 2020**

HALLYSON OLIVEIRA  
Engenheiro Agrícola

***AZOSPIRILLUM BRASILENSE* COMO ATENUANTE DO EFEITO DA  
SALINIDADE EM MILHO IRRIGADO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola do Centro de Tecnologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Engenharia Agrícola. Área de Concentração: Irrigação e Drenagem.

**Orientador:** Prof. Dsc. Ronaldo do Nascimento

Campina Grande – PB  
Setembro de 2020

O48a

Oliveira, Hallyson.

*Azospirillum brasiliense* como atenuante do efeito da salinidade em milho irrigado / Hallyson Oliveira. - Campina Grande, 2020.  
76f. : il. Color.

Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, 2020.

"Orientação: Prof. Dr. Ronaldo do Nascimento".

Referências.

1. *Zea mays* L. 2. Plantas C4. 3. Bactérias. 4. Inoculação. 5. Qualidade da água. I. Nascimento, Ronaldo do. II. Título.

CDU 633.15(043)



PARECER FINAL DO JULGAMENTO DA TESE

**HALLYSON OLIVEIRA**

**APROVADO: 24 DE SETEMBRO DE 2020**

**BANCA EXAMINADORA**

**Dr. Ronaldo do Nascimento**  
Orientador – UAEA/CTRN/UFCG

**Dra. Maria Sallydelândia de Farias Araújo**  
Examinadora – UAEA/CTRN/UFCG

**Dra. Vera Lucia Antunes de Lima**  
Examinadora – UAEA/CTRN/UFCG

**Dr. Leandro Oliveira de Andrade**  
Examinador - CCAA/DAA/UEPB

**Dra. Tainara Tâmara Santiago Silva**  
Examinadora - IFGoiano/GO

## ***OFEREÇO***

*A meus pais, Maria de Fátima Oliveira e José de Oliveira.  
Aos meus irmãos, Rosângela, José Antônio, Sérgio, Rejane,  
Nilton e Fabiana, pelo incentivo aos estudos e por todo  
amor e carinho.*

## ***DEDICO***

*A minha esposa, por todo amor, carinho e paciência.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por estar sempre presente em minha vida, dando forças para vencer os obstáculos e as incertezas;

A toda a minha família, por todo apoio, carinho e incentivo durante a minha formação, em especial, a minha mãe e meu pai, Maria de Fátima Oliveira e José de Oliveira, pelos incentivos diários, palavras de fé, amor, carinho, paciência, enfim, por proporcionar tudo que há de melhor na vida. EU AMO VOCÊS;

A minha esposa, Suellen, pelo apoio diário, palavras de incentivo, amor e principalmente paciência;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ronaldo do Nascimento, pela orientação, incentivos, paciência, e, sobretudo, pela amizade construída durante esses anos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão parcial de bolsa de estudo;

À Universidade Federal de Campina Grande, em especial, à Coordenação de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, pela oportunidade da realização deste curso;

Aos amigos Felipe, Jean, Mayra e Elka, por sempre compartilharem os bons momentos vividos desde a Graduação;

Aos amigos de Pós-Graduação Felipe, Jean, Leandro, Mayra, Elka, Robson, Carlos e Antônio pela ajuda na execução e nas avaliações dos experimentos;

Aos técnicos de laboratório do UAEEA/UFCG Wilson, Zé Maria e Jaqueline pela paciência e incentivos para comigo durante esses anos;

Aos que, de alguma forma, contribuíram com esta conquista e não foram citados, sintam-se agradecidos.

Meu muito obrigado a todos!

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	2
2.1. Objetivo Geral.....	2
2.2. Objetivos Específicos.....	2
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
<b>3.1. Cultura do milho</b> .....	3
3.1.1. Aspectos Botânicos e Morfológicos do Milho .....	3
3.1.2. Estádios Fenológicos .....	4
3.1.3. Importância e Produção do Milho .....	6
<b>3.2. Salinidade</b> .....	7
3.2.1. Qualidade da água salina para irrigação .....	7
3.2.2. Efeito osmótico e tóxico .....	8
3.2.3. Tolerância das plantas à salinidade .....	9
3.2.4. Salinidade em Milho.....	10
<b>3.3. <i>Azospirillum brasilense</i></b> .....	11
<b>3.4. Inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> em gramíneas</b> .....	12
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	13
4.1. Localização da área experimental .....	13
4.2. Cultivar utilizada e tratos culturais .....	13
4.3. Preparo da inoculação .....	15
4.4. Delineamento experimental .....	15
4.5. Preparo da água de irrigação.....	15
4.6. Manejo da irrigação .....	16
<b>4.7. Variáveis avaliadas</b> .....	16
4.7.1. Dados de Emergência/Vigor.....	16
4.7.2. Dados de Crescimento .....	17
4.7.3. Dados Fisiológicos .....	18
4.7.4. Dados de Produção .....	20
<b>4.8. Análise Estatística</b> .....	20
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	20
<b>5.1. Emergência/Vigor</b> .....	20
<b>5.2. Crescimento</b> .....	21

<b>5.3. Análises fisiológicas foliares</b> .....	29
5.3.1. Fluorescência da Clorofila <i>a</i> .....	29
5.3.2. Índice SPAD e Pigmentos fotossintéticos .....	33
5.3.3. Trocas gasosas .....	38
5.3.4. Teor relativo de água nas folhas e extravasamento de eletrólitos .....	46
<b>5.4. Produção</b> .....	49
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	54
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	55

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Classificação da qualidade das águas salinas para irrigação. ....	8
<b>Tabela 2.</b> Classificação da qualidade de água quanto ao problema de salinidade.....	8
<b>Tabela 3.</b> Fertilidade e propriedades químicas do solo.....	13
<b>Tabela 4.</b> Propriedades físicas do solo.....	14
<b>Tabela 5.</b> Resumo da Análise de Variância referente à percentagem de emergência (PE) e índice de velocidade de emergência (IVE) de plantas de milho submetidas a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).....	20
<b>Tabela 6.</b> Resumo da Análise de Variância referente à altura da planta (AP), diâmetro do colmo (DC), número de folhas (NF) e área foliar (AF) de milho, em três momentos distintos, submetidas a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).....	22
<b>Tabela 7.</b> Resumo da Análise de Variância referente às massas secas das folhas (MSF), do colmo (MSC), do pendão (MSP) e das raízes (MSR), submetidas a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).....	26
<b>Tabela 8.</b> Resumo da Análise de Variância referente à fluorescência das folhas de milho, submetidas a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).....	29
<b>Tabela 9.</b> Resumo da Análise de Variância referente ao índice SPAD e pigmentos fotossintéticos das folhas de milho, submetidas a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa). ....	33
<b>Tabela 10.</b> Resumo da Análise de Variância referente às trocas gasosas das folhas de milho, submetidas a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).....	38
<b>Tabela 11.</b> Resumo da Análise de Variância referente à eficiência instantânea de uso da água (EiUA) e eficiência instantânea de carboxilação (EiC) das folhas de milho, submetidas a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).....	43
<b>Tabela 12.</b> Resumo da Análise de Variância referente ao teor relativo de água (TRA) e extravasamento de eletrólitos (EE) das folhas de milho, submetidas a doses de <i>Azospirillum brasilense</i> associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).....	47

**Tabela 13.** Resumo da Análise de Variância referente aos parâmetros de produção do milho, submetidas a doses de *Azospirillum brasilense* associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa)..... 49

## Lista de Figuras

- Figura 1.** Correção de pH do solo com calcário dolomítico..... 14
- Figura 2.** Efeito dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a altura de planta (AP), número de folhas (NF) e área foliar (AF) do milho nas avaliações de crescimento V8, V10 e Vt. .... 24
- Figura 3.** Efeito dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre as massas secas das folhas (MSF) e do colmo (MSC) do milho..... 27
- Figura 4.** Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a massa seca das raízes (MSR) do milho. .... 28
- Figura 5.** Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre fluorescência das folhas do milho. .... 31
- Figura 6.** Efeito dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a eficiência quântica do fotossistema II (Fv/m). .... 32
- Figura 7.** Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre o índice SPAD das folhas do milho..... 35
- Figura 8.** Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre os pigmentos fotossintéticos das folhas do milho. .... 37
- Figura 9.** Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a condutância estomática (gs) das folhas do milho. .... 40
- Figura 10.** Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a transpiração (E) das folhas do milho. .... 41
- Figura 11.** Efeito dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a fotossíntese (A) das folhas de milho..... 42
- Figura 12.** Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) nas folhas do milho..... 43
- Figura 13.** Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a eficiência instantânea de uso da água (EiUA) das folhas do milho. .... 45
- Figura 14.** Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a eficiência instantânea de carboxilação (EiC) das folhas do milho. .... 46

<b>Figura 15.</b> Efeito das doses de <i>Azospirillum brasilense</i> associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre o teor relativo de água (TRA) e extravasamento de eletrólitos (EE) das folhas do milho. ....	48
<b>Figura 16.</b> Efeito das doses de <i>Azospirillum brasilense</i> associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a massa seca total da espiga (MSTE) do milho..	50
<b>Figura 17.</b> Efeito dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre o número de grãos por espiga (NGE) e massa seca dos grãos por espiga (MSGE). ....	52
<b>Figura 18.</b> Efeito das doses de <i>Azospirillum brasilense</i> associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre o comprimento da espiga (CE) do milho.....	52
<b>Figura 19.</b> Efeito dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação e doses de <i>Azospirillum brasilense</i> sobre o índice de colheita (IC) do milho. ....	53

# **AZOSPIRILLUM BRASILENSE COMO ATENUANTE DO EFEITO DA SALINIDADE EM MILHO IRRIGADO**

## **RESUMO**

A salinidade, de maneira geral, afeta o crescimento e desenvolvimento das plantas, tornando-se uma problemática limitante à produção agrícola. Em virtude disso, estudos relacionados à atenuação deste fator abiótico são primordiais, principalmente, em regiões propícias à escassez hídrica. Objetivou-se com esta pesquisa avaliar o efeito atenuante de doses do inoculante turfoso de *Azospirillum brasilense*, em cultivar híbrida de milho, submetida a diferentes concentrações de salinidade da água de irrigação. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação localizada no campus I da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Foram utilizadas sementes da variedade NS 50 PRO de milho, sendo inoculadas e semeadas no mesmo dia. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados (DBC), com arranjo fatorial 3x5, em 4 blocos, totalizando 60 unidades experimentais, sendo três doses de *Azospirillum brasilense* (0.0; 0.32 e 0.48 mL) associadas a cinco níveis de condutividade elétrica da água (0.3; 0.6; 1.1; 1.7 e 2.3 dS m<sup>-1</sup>). A avaliação de emergência ocorreu do primeiro até o décimo dia após a emergência (DAE), analisando-se a percentagem de emergência (PE) e índice de velocidade de emergência (IVE). Já as avaliações de crescimento ocorreram em três momentos distintos, a cada 15 dias, entre os estádios vegetativos V8, V10 e Vt (pendoamento). Nestes períodos foram verificadas a altura de planta (AP), diâmetro do colmo (DC), número de folhas (NF), área foliar (AF), massas seca das folhas (MSF), colmo (MSC), pendão (MSP) e raízes (MSR). As análises de pigmentos fotossintéticos, trocas gasosas, teor relativo de água nas folhas e extravasamento de eletrólitos foram realizadas no estádio Vt, enquanto que a produção foi analisada no fim do ciclo da cultura. Os tratamentos de associação entre salinidade e *Azospirillum brasilense* não apresentaram efeito sobre a emergência das plântulas. A salinidade afetou significativamente as variáveis de crescimento, porém, o número de folhas apresentou acréscimos de 12.8% (V8) e 18.8% (V10), comparando-se a diferença entre a menor e maior salinidade estudada. A altura da planta registrou incremento de 3.7% até a salinidade limiar da cultura (1.1 dS m<sup>-1</sup>). A massa seca das raízes apresentou aumento com a aplicação das doses bacterianas em cada nível salino estudado. O aparato fotossintético foi afetado, a partir das concentrações salinas de 1.1 dS m<sup>-1</sup>. As trocas gasosas e teores de clorofila apresentaram influência positiva das doses bacterianas. A produção foi afetada negativamente pelos altos níveis de condutividade elétrica da água de irrigação, mesmo com a aplicação das doses de *Azospirillum brasilense*.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L. Plantas C4. Bactérias. Inoculação. Qualidade da água.

# **AZOSPIRILLUM BRASILENSE AS AN ATTENUANT TO THE EFFECT OF SALINITY IN MAIZE**

## **ABSTRACT**

Salinity, in general, affects the growth and development of plants, causing problems in the yield. However, studies related to the attenuation of this abiotic factor must be essential, especially in regions that are prone to water scarcity. Thus, this research aimed to evaluate the attenuating effect of doses of the peat inoculant of *Azospirillum brasilense* in a hybrid maize cultivar submitted to different salinity concentrations of irrigation water. The experiment was carried out in a greenhouse located at campus I of the Federal University of Campina Grande - UFCG. Seeds of the variety NS PRO of maize were used, being inoculated and sown at this day. The experimental design was a randomized block (DBC), with a 3x5 factorial arrangement, in 4 blocks, totaling 60 experimental units, with three doses of *Azospirillum brasilense* (0.0; 0.32 and 0.48 mL) associated with five levels of electrical conductivity of the water (0.3; 0.6; 1.1; 1.7 and 2.3 dS m<sup>-1</sup>). The emergency evaluation took place from the first to the tenth day after emergence (DAE), analyzing the percentage of emergence (PE) and emergence speed index (ESI). Growth evaluations, on the other hand, took place at three different times, every 15 days, between the vegetative stages V8, V10 and Vt (weighing). In these periods, the plant height (PH), stem diameter (SD), number of leaves (NL), leaf area (LA), dry leaf masses (DLM), stem (DLS), tassel (DLT) and roots (DLR) were verified. The analyzes of photosynthetic pigments, gas exchanges, relative water content in the leaves and electrolyte leakage were carried out at the Vt stage, while the production was analyzed at the end of the entire culture cycle. The association treatments between salinity and *Azospirillum brasilense* had no effect under the emergency. Salinity affected significantly the growth variables, but the number of leaves presented increase of 12.8% (V8) and 18.8% (V10) comparing the difference between minor and major salinity studied. The plant height registered increase of 3.7% until the limiar salinity of the crop (1.1 dS m<sup>-1</sup>). The dry mass of the roots increased with the application of bacterial doses in each salt level studied. The photosynthetic apparatus was affected from saline concentrations of 1.1 dS m<sup>-1</sup>. Gas exchange and chlorophyll content were positively influenced by bacterial doses. The yield was negatively affected by the high levels of electrical conductivity of the irrigation water, even with the application of doses of *Azospirillum brasilense*.

**Keywords:** *Zea mays* L. C4 crops. Bacteria. Inoculation. Water quality.

## 1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma das principais culturas de grãos produzidas no Brasil, principalmente, nos períodos chuvosos, devido a sua aplicação e consumo na agricultura familiar. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2020), em seu boletim de acompanhamento de safra 2019/2020, a produção total do milho no país para a primeira e segunda safra é estimada em 100.1 milhões de toneladas, sendo 0.3% acima da safra passada. Contudo, para obtenção de uma produção elevada, é necessária a interação de diversos fatores, como cultivares, tipo de solo, clima, qualidade da água, entre outros.

Fritsche-Neto e Môro (2015) classificam as cultivares de milho em dois tipos: variedades e híbridos, sendo este último dividido em simples, duplo e triplo. Além disso, recomendam que a escolha da cultivar leve em consideração as características do sistema de produção, ou seja, silagem ou grãos.

O híbrido simples NS 50 PRO é uma cultivar que apresenta boa sanidade de grãos e alta capacidade de enraizamento e empalhamento. Além disso, possui alta produtividade com qualidade de grãos, perfil genético superprecoce (125 a 140 dias para colheita), sendo recomendado tanto para o verão (60 a 70 mil pl./ha) quanto para safrinha (50 a 60 mil pl./ha), tendo como finalidade a produção de grãos (NIDERA SEMENTES, 2020).

Por ser uma cultura de origem tropical, durante todo seu ciclo vegetativo, o milho requer calor e água. Em consonância a estes fatores, necessita também de exigências ecofisiológicas, pois os processos de fotossíntese, respiração e transpiração estão diretamente ligados ao calor, enquanto o crescimento, desenvolvimento e translocação de fotoassimilados se devem à disponibilidade hídrica (FANCELLI, 2015).

Diante disto, a qualidade da água se torna importantíssima no cultivo do milho, principalmente, na região semiárida, sendo necessárias políticas de uso de água, devido a sua escassez. Em tese, o uso de águas salinas já vem sendo estudado há alguns anos, porém, a cultura do milho, de acordo com Ayers e Westcot (1999), é considerada moderadamente sensível à salinidade, com salinidade limiar da água de  $1.1 \text{ dS m}^{-1}$  e do solo de  $1.7 \text{ dS m}^{-1}$ , o que prejudica seu crescimento, desenvolvimento e produção.

Em pesquisas relacionadas com milho de diversas cultivares submetido a ambientes salinos, em várias regiões, é nítida a redução do vigor, das variáveis de crescimento, fisiológicas, bioquímicas e de produção (WILLADINO *et al.*, 1994; LACERDA *et al.*, 2011; GOMES *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2017; VILLA *et al.*, 2019).

No entanto, a partir desses efeitos deletérios da salinidade na cultura do milho, faz-se necessário estudos de técnicas ou aplicação de produtos, hormônios e bactérias que venham atenuar esses danos.

A utilização de bactérias promotoras de crescimento pode ser um caminho para a mitigação do efeito da salinidade sobre as plantas, visto que promovem diversos benefícios, como fixação biológica de nitrogênio, aumento na atividade da redutase do nitrato, produção de hormônios como auxinas, citocininas, giberelinas e etileno, incremento do sistema radicular, entre outros (HUNGRIA, 2011).

Entre várias espécies de bactérias promotoras de crescimento destaca-se a do gênero *Azospirillum brasilense*, que são estudadas desde a década de 1970 (DÖBEREINER; DAY, 1976). Este gênero produz fitohormônios estimulantes do crescimento do sistema radicular de diversas plantas, incluindo o milho, através do ácido indol-acético (AIA), giberelinas e citocininas (TIEN *et al.*, 1979).

Com isso, o maior crescimento das raízes, por razão da inoculação destas bactérias, pode resultar em outros efeitos, como, por exemplo, aumento na absorção de água e nutrientes, além de melhoria nas respostas fisiológicas das plantas, tais como teor de clorofila, condutância estomática, aumento do teor de prolina na parte aérea e raízes, no teor de água do apoplasto, na elasticidade da parede celular, na produção de biomassa, na altura de plantas, no potencial hídrico (BARASSI *et al.*, 2008).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Avaliar o uso de *Azospirillum brasilense*, como atenuador do efeito deletério de níveis crescentes de salinidade da água de irrigação, aplicadas na cultura do milho (NS 50 PRO).

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Avaliar as alterações nos parâmetros de vigor e crescimento do milho cv. NS 50 PRO, ao ser submetido a tratamentos de níveis de salinidade da água de irrigação, associado a diferentes doses de inoculação de *Azospirillum brasilense*;
- Analisar os processos de trocas gasosas e pigmentos fotossintéticos da cultura do milho, quando submetidas aos tratamentos de salinidade da água de irrigação associado às doses do inoculante bacteriano;

- Avaliar o desempenho produtivo do milho irrigado, com diferentes concentrações de águas salinas, associado à utilização de bactérias de *Azospirillum brasilense*.
- Identificar quais associações de doses de *Azospirillum brasilense* e concentrações de níveis salinos da água de irrigação influenciam no rendimento vegetativo e produtivo do milho;
- Analisar o efeito da utilização de bactérias de *Azospirillum brasilense* no crescimento do sistema radicular da cultivar de milho.

### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1. Cultura do milho**

##### **3.1.1. Aspectos Botânicos e Morfológicos do Milho**

O milho (*Zea mays* L.) é uma gramínea anual, monocotiledônea que pertence à família *Poaceae*, subfamília *Panicoideae* e gênero *Zea*, com fecundação cruzada e via fotossíntese C<sub>4</sub> (SILOTO, 2002; GONÇALVES, 2013).

Botanicamente, a semente do milho é classificada como *cariopse*, que é dividida em três partes: pericarpo, endosperma e embrião. A parte externa da semente é chamada de pericarpo, que além de ser fina e resistente, é quem envolve o endosperma. O endosperma é a parte que possui o amido e outros carboidratos e contém em sua morfologia uma camada externa chamada aleurona, rica em proteínas e enzimas, além de desempenhar um papel importante na germinação. Já o embrião corresponde ao estágio inicial da planta (BARROS; CALADO, 2014).

O sistema radicular da cultura do milho é caracterizado em partes distintas: primárias, seminais, adventícias e de suporte. As raízes primárias e seminais desenvolvem-se a partir do embrião. Elas são as responsáveis pela fixação das plântulas, em curto período de tempo, levando de duas a três semanas. A raiz primária é a que cresce verticalmente, enquanto que as raízes seminais ou embrionárias partem da coleorriza, que tem a função de protegê-las e absorver água e nutrientes com seus pêlos absorventes. As raízes adventícias substituem as primárias e seminais, com quantidade de seis a dez nós, próximos uns dos outros, enquanto que as raízes de suporte surgem acima da superfície do solo, não só funcionando como sustentação das plantas, mas também proporcionando absorção de fósforo e talvez de outros nutrientes (MAGALHÃES *et al.*, 1995).

O caule do milho é chamado de colmo, a parte da cultura que dá sustentação às folhas e as partes florais, geralmente, sem ramificações e com aparecimento de nós e

entrenós denominados meritalos. O colmo também é considerado um órgão de reserva de sacarose e fotoassimilados, que são translocados para os grãos durante o período de senescência da planta, provocando o enfraquecimento do colmo e, posterior, quebramento (MAGALHÃES *et al.* 1995; CRUZ *et al.*, 1996; BARROS; CALADO, 2014).

A folha desta gramínea é constituída pela bainha e o limbo foliar. A bainha é a parte conectora do limbo foliar com o colmo, e tem a função de proteger o colmo de ataques de patógenos. Já o limbo é a estrutura constituída pela epiderme (tecido mais externo, em contato direto com o ambiente), e pelo mesófilo, que é a parte constituída pelos tecidos parenquimáticos, estando entre as epidermes inferior e superior das folhas. É considerada a parte mais ativa das folhas, por abranger os feixes vasculares que são formados pelo xilema e floema (ESAU, 1977; RAVEN *et al.*, 1996).

Há dois tipos de inflorescência no milho, a masculina definida como pendoamento e a feminina que origina a espiga. O pendoamento identifica o fim do crescimento da planta e início do desenvolvimento das espigas. Estes ficam em sintonia até o desenvolvimento completo da espiga (BARROS; CALADO, 2014).

Ainda, segundo Barros e Calado (2014), o desenvolvimento da espiga está baseado em dois processos interligados. Primeiro, através do vento, o pendão libera o pólen (polinização) inserido na espigueta. Esta liberação acontece de dois a três dias antes da emissão dos estilo-estigmas (cabelos), ocorrendo a polinização cruzada, ou seja, o pólen liberado de uma planta se instala nos estilo-estigmas de outra planta. A partir deste contato, os pêlos viscosos dos cabelos estimulam a germinação do grão de pólen, originando o tubo polínico, que é responsável pela fecundação do óvulo inserido na espiga (fertilização). Em resumo, cada estilo-estigma (cabelo) é responsável pela fertilização de um grão de milho, em um período de 14 dias.

### **3.1.2. Estádios Fenológicos**

Os estádios de crescimento e desenvolvimento da cultura do milho estão divididos em vegetativo (V) e reprodutivo (R). O estágio vegetativo é representado numericamente em V1, V2, V3, ..., Vn, ou seja, até o final do seu desenvolvimento foliar, que ocorre até o processo de pendoamento (Vt). O estágio reprodutivo se inicia a partir da emergência do primeiro estilo-estigma (cabelo) das espigas, chegando até a maturação fisiológica dos grãos de milho (MAGALHÃES; DURÃES, 2006).

### **3.1.2.1. Estádio Vegetativo**

O estágio fenológico do milho se inicia com a germinação/emergência (estádio VE). Neste estágio, a água é fator importante para o desenvolvimento germinativo, visto que a umidade amolece o pericarpo e aciona reações metabólicas, provocando o desenvolvimento do embrião e, posteriormente, o rompimento do pericarpo, provocando a entrada de oxigênio nas células embrionárias iniciando a embebição (OLIVEIRA, 2017). A partir disto, começa o processo de emergência, através do desenvolvimento da radícula e suas raízes seminais, provocando a subida do coleótilo para a superfície do solo (FANCELLI, 2015).

Até o estágio vegetativo Vt (pendoamento), a identificação dos demais estádios é caracterizada pelo desenvolvimento das folhas, isto é, a visibilidade do colar na inserção da bainha da folha com o colmo (MAGALHÃES; DURÃES, 2006). Porém, existem especificidades em alguns estádios. No V3 (três folhas desenvolvidas), as características específicas são a paralisação do desenvolvimento das raízes seminais e definição da quantidade máxima de grãos a serem produzidos na planta. No V6, o colmo já está bem caracterizado e o crescimento da planta já ocorre devido ao seu sistema radicular fasciculado. O V8 demonstra a queda das primeiras folhas, de baixo para cima, além de definir o número de fileiras de grãos por espiga (MAGALHÃES *et al.*, 2002).

A espiga aparece, geralmente, entre os estádios V9 a V12, iniciando com a emersão dos estilo-estigmas, que vêm logo após o fim do pendoamento (Vt). O pendoamento é caracterizado pelo desenvolvimento do último ramo do pendão e os estigmas ainda não tenham emergido (FANCELLI, 2015).

### **3.1.2.2. Estádio Reprodutivo**

Segundo Magalhães *et al.* (2002), o estágio reprodutivo do milho é constituído de seis etapas, que compreende o período do chamado embonecamento até a maturação fisiológica do grão. O estágio R1 engloba os processos de embonecamento (emersão dos estilo-estigmas) e polinização, que consiste na liberação dos grãos de pólen pelo pendão e posterior captura por um desses estigmas. Os autores definem o estágio R2 como aquele que compreende a aparição dos grãos bolha d'água, ou seja, apresentam coloração branca externamente, com aspecto de uma bolha d'água. Neste estágio, alguns aspectos morfológicos já estão formados, como a radícula, o coleótilo e a primeira folha embrionária.

Os estádios R3 e R4 se diferenciam pela característica do fluido presente no interior do grão. O R3 compreende o grão leitoso, ou seja, com aparência amarelada contendo um fluido leitoso, enquanto o R4 possui um fluido mais denso, pastoso. Neste estádio, as estruturas embrionárias já estão bem definidas, além de um ganho de peso acentuado (MAGALHÃES *et al.*, 2002).

Por fim, Magalhães *et al.* (2002) ainda transcorrem sobre o estádio R5 e R6. O primeiro ocorre com a formação do “dente”, ou seja, formação côncava na parte superior do grão que o fixa com a espiga. A partir deste estádio, acontece a transição do estado pastoso para o farináceo, em que a linha divisória do amido ou leite avança até a espiga, para alcançar o máximo de acúmulo de peso seco e vigor do grão, definindo desta forma a maturidade fisiológica (R6).

### **3.1.3. Importância e Produção do Milho**

Mundialmente, a cultura do milho se torna importante devido a sua capacidade de produção em grande quantidade e em enorme área cultivada, além de apresentar valor nutricional e papel socioeconômico, servindo de matéria-prima de vários produtos industrializados, gerando empregos para inúmeras pessoas, desde o plantio até a sua comercialização (SANTOS, 2012).

De acordo com Barros e Alves (2015), a ampliação do uso do milho está indo além da ração animal, que um dos empregos mais comuns em anos anteriores. As indústrias vêm inovando e tornando o emprego do milho na produção de insumos, como lisina, itens biodegradáveis, isogluose, etanol etc.

O milho é considerado um cereal versátil, sendo consumido diretamente por seus produtores ou servindo de subproduto por indústrias farmacêuticas, química, de bebidas e de combustível. É um cereal rico em proteína, gordura e fibras, sendo considerada fonte de energia. É composto em sua base seca de 72% de amido, 9.5% de proteínas, 9% de fibra e 4% de óleo (PAES, 2006).

Cruz (2011) afirma que a maior parte da produção mundial de milho, cerca de 70%, é destinada para a produção animal, destacando-se a avicultura, suinocultura e bovinocultura. Os outros 30% da produção dividem-se em consumo humano, indústria e sementes.

No Brasil, de acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Milho (ABIMILHO, 2020), o consumo animal, na safra 2019/2020, nos meses de novembro e dezembro, equivaleu a aproximadamente 50% da produção total (109.192 mil toneladas),

com consumo maior da avicultura, seguida da suinocultura e bovinocultura, respectivamente. Já a destinação para o consumo humano foi de apenas 1%, aproximadamente.

A CONAB (2020) estima uma produção de 100,1 milhões de toneladas para a cultura do milho nesta safra (2019/2020), em uma área cultivada de 4,23 milhões de hectares. Nesta estimativa, as regiões que se destacam são: Centro-Oeste, com o Mato Grosso produzindo 72.777,7 mil toneladas, e a região Sul, com o Paraná produzindo 40.218,8 mil toneladas de grãos de milho. Na região Nordeste se destacam os estados do Maranhão, Piauí e Bahia, por fazerem parte da extensão agrícola chamada MATOPIBA. A Paraíba fica à frente do Rio Grande do Norte e Amazonas, em produção total, com 89,3 mil toneladas.

## **3.2. Salinidade**

### **3.2.1. Qualidade da água salina para irrigação**

Os problemas ocasionados no crescimento e desenvolvimento das plantas pela salinidade são estudados em todo o mundo, principalmente, em regiões áridas e semiáridas (SCHOSSLER *et al.*, 2012). Devido à maior evaporação e menor precipitação, a região Nordeste é propícia ao estudo da salinidade (FREIRE; FREIRE, 2007), em especial, no que se refere à qualidade de água e no manejo inadequado da irrigação (FILHO *et al.*, 2014), visto que a demanda de água pelas plantas não é atendida pelas chuvas, sendo necessário o uso de águas de qualidade inferior (NETTO *et al.*, 2007).

A avaliação da qualidade das águas salinas é indispensável, pois têm característica de natureza osmótica, afetando a absorção de água pelas plantas e, conseqüentemente, o seu crescimento e desenvolvimento (HOLANDA *et al.*, 2016).

Tomando como base esta natureza osmótica, alguns pesquisadores apresentaram suas classificações de qualidade de água salina para utilização na agricultura, entre eles Richards (1954), que coordenou os estudos no Laboratório de Salinidade dos Estados Unidos, em Riverside, Califórnia, classificando as águas em classes de salinidade C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>.

Richards (1954) definiu as classes de salinidade da seguinte forma:

- C<sub>1</sub>: água de baixa salinidade, podendo ser usada na produção da maioria das culturas, com baixa probabilidade de danos ao solo.

- C<sub>2</sub>: água de média salinidade, podendo ser usada na produção de plantas moderadamente toleráveis à salinidade, contudo, requer lixiviação moderada dos sais no solo.
- C<sub>3</sub>: água de alta salinidade, apresentando ressalvas, ou seja, podendo ser utilizada em culturas com alta tolerância aos sais e em solos que não apresentem deficiência na drenagem, e caso presente, sendo necessário a utilização de práticas especiais de controle à salinidade.
- C<sub>4</sub>: água de muito alta salinidade, não sendo apropriada para irrigação. Quando utilizada, requer uma quantidade enorme de água para lixiviação dos sais.

Diante destas classificações, Frenkel (1984) resolveu tabelá-las (Tabela 1).

**Tabela 1 - Classificação da qualidade das águas salinas para irrigação.**

Classe de salinidade	Richards (1954)	UCCC <sup>1</sup>	Risco de Salinidade
	Faixas de CE <sub>a</sub> (dS m <sup>-1</sup> )		
C <sub>1</sub>	< 0,25	< 0,75	Baixo
C <sub>2</sub>	0,25 - 0,75	0,75 - 1,50	Médio
C <sub>3</sub>	0,75 - 2,25	1,50 - 3,00	Alto
C <sub>4</sub>	> 2,25	> 3,00	Muito Alto

<sup>1</sup>UCCC – University of California Committee of Consultants.

Fonte: Frenkel, 1984.

Outros autores que também estudaram a qualidade das águas salinas foram Ayers e Westcot (1991), apresentando suas classificações (Tabela 2).

**Tabela 2 - Classificação da qualidade de água quanto ao problema de salinidade.**

Ayers & Westcot (1991)	
Faixa de CE <sub>a</sub> (dS m <sup>-1</sup> )	Problema de Salinidade
< 0,7	Nenhum
0,7 - 3,0	Moderado
> 3,0	Severo

Fonte: Ayers & Westcot, 1991.

Além disso, Ayers e Westcot (1999) ainda estudaram os níveis de tolerância à salinidade da água apresentados por diversas culturas, entre elas, o milho, com uma salinidade limiar da água de 1.1 dS m<sup>-1</sup> e do solo de 1.7 dS m<sup>-1</sup>.

### 3.2.2. Efeito osmótico e tóxico

Culturas submetidas a irrigações com águas salinas tendem a apresentar problemas no crescimento e desenvolvimento, afetando diretamente a sua produção. Esses efeitos são descritos na literatura como osmótico e tóxico. Segundo Alves *et al.* (2011), o efeito osmótico é definido como a redução do potencial osmótico do solo,

através do acúmulo desacelerado de sais na solução do solo, tornando-o mais negativo que o  $\psi_0$  da planta, acarretando a redução de absorção de água e nutrientes necessários para seu crescimento.

Quanto à toxicidade iônica, as plantas sofrem com o acúmulo excessivo de íons nos tecidos vegetais. Estes íons são oriundos das águas de irrigação ou do solo e se dividem basicamente em três principais: sódio, cloreto e boro. Esses íons têm particularidades quanto ao desbalanço nutricional das plantas. O excesso de Na provoca, em geral, deficiência dos nutrientes K e Ca e indução de danos celulares, ocasionando queimaduras ou necrosa nas bordas das folhas. O  $\text{Cl}^-$  depende do excesso de sódio, interferindo na absorção de nitratos e no transporte de ácidos orgânicos dentro e entre as células vegetais (DIAS *et al.*, 2016).

Através desses efeitos, vários parâmetros de germinação, crescimento, fisiológicos, nutricionais, entre outros, podem ser prejudicados. Holanda Filho *et al.* (2013) verificaram em seus estudos que, com o aumento dos níveis salinos da água de irrigação, a produtividade da mandioca diminuiu. Andrade *et al.* (2016), estudando o comportamento das variáveis de crescimento do pimentão irrigado, com diferentes níveis de salinidade, concluiu que a altura da planta, número de folhas e área foliar reduziram linearmente, em relação ao aumento do nível de sal da água.

Esteves e Suzuki (2008) acrescentam que durante a salinidade alguns processos são danificados, estando entre eles a síntese de proteínas, metabolismo de lipídeos e fotossíntese. Pereira (2012) também verificou problemas na fotossíntese de plantas de algodão colorido, além de redução da condutância estomática, transpiração e concentração interna de  $\text{CO}_2$ , à medida que houve aumento da salinidade.

### **3.2.3. Tolerância das plantas à salinidade**

As plantas têm comportamentos diferentes quando submetidas a estresses (FILHO *et al.*, 2014) e apresentam tolerância, ou seja, a capacidade de se desenvolver e ter rendimentos favoráveis quando submetidas a estes (GREENWAY; MUNNS, 1980). Algumas apresentam tolerância, outras são sensíveis. Talvez, pelo fato de serem de espécies ou de genótipos diferentes dentro da mesma espécie.

As plantas definidas como tolerantes à salinidade são chamadas de halófitas, enquanto as que apresentam sensibilidade são denominadas de glicófitas (DIAS *et al.*, 2016). Com isso, as halófitas demonstram melhor os mecanismos de tolerância à

salinidade, permitindo condições de se desenvolverem neste meio (ESTEVES; SUZUKI, 2008; FERNANDES *et al.*, 2016).

Um dos mecanismos de adaptação mais conhecido e estudado é o ajustamento osmótico, em que ocorre um acúmulo de solutos orgânicos na célula vegetal, com destaque para a prolina, que tem o papel de osmorregulação, permitindo maior tolerância (TAIZ; ZEIGER, 2013), através da redução do potencial osmótico e aumento do potencial de turgescência celular, o que facilita a absorção de água (SILVEIRA *et al.*, 2016).

Outros fatores de adaptação comumente verificados, em diversos estudos, tanto em halófitas quanto em glicófitas, são o fechamento estomático (evitar perda de água pela transpiração), senescência das folhas mais velhas (transporte de nutrientes para as folhas mais jovens), aprofundamento das raízes, enrijecimento celular (alterações nas estruturas das membranas), mudanças nas rotas fotossintéticas, induções das sínteses de enzimas antioxidantes e de hormônios vegetais (PARIDA; DAS, 2005; ESTEVES; SUZUKI, 2008).

#### **3.2.4. Salinidade em Milho**

A qualidade da água para irrigação é de suma importância para o cultivo de plantas, pois é fator determinante no desempenho de crescimento e produtividade da planta (RICARDI; ROSA, 2018). Na cultura do milho, esse fator se torna ainda mais relevante, em especial, quando irrigada com água de salinidade elevada, visto que é uma planta considerada moderadamente sensível a níveis elevados de sais (AYERS; WESTCOT, 1999).

Segundo Amorim *et al.* (2010), o excesso de sais nas plantas pode prejudicar as suas funções fisiológicas e bioquímicas, acarretando problemas de absorção de água e nutrientes, estando diretamente ligado à redução do crescimento e desenvolvimento das culturas.

Na cultura do milho, estudos evidenciam diferentes resultados. Sousa *et al.* (2012), avaliando o crescimento inicial de milho submetido à irrigação com águas salinas, verificaram redução do crescimento quando relacionado à altura de plantas e massa seca das raízes, contudo, não obtiveram diferença estatística para o diâmetro caulinar.

Nazário *et al.* (2013) apresentaram, em suas conclusões, efeitos deletérios nas variáveis estudadas do milho, provocando redução significativa da massa seca da parte aérea, das raízes, da área foliar, número de grãos e peso de grãos por planta associado ao aumento dos níveis de condutividade elétrica da água de irrigação.

Fatores fisiológicos também foram prejudicados, em pesquisa desenvolvida por Sousa *et al.* (2016), em que os autores avaliaram a interação entre salinidade e biofertilizante de caranguejo na cultura do milho. Quando isolaram o fator salinidade, verificaram decréscimo linear da taxa de fotossíntese, condutância estomática e transpiração à medida que os níveis de sais da água eram maiores. Azizian e Sepaskhak (2014) também notaram decréscimo da fotossíntese e condutância estomática de plantas de milho irrigadas com águas salinas.

Moussa e Galad (2015) obtiveram resultados decrescentes, quanto aos pigmentos fotossintéticos (clorofila a e clorofila b), em duas cultivares de milho sob irrigação salina.

### 3.3. *Azospirillum brasilense*

O crescimento e desenvolvimento das plantas dependem de diversos fatores que devem estar interligados entre si, como utilização de culturas adaptadas a condições impostas pelo meio, solo fértil, manejo de pragas e doenças, clima favorável, entre outros (MUMBACH *et al.*, 2017). Contudo, nem sempre há condições adequadas para o cultivo, sendo necessário o produtor procurar formas de mitigação ou atenuação dos efeitos deletérios decorrentes destas ausências.

Para tanto, pesquisas relacionadas ao uso de bactérias promotoras de crescimento estão sendo amplamente discutidas. É o caso das bactérias diazotróficas endofíticas, que vêm contribuindo com a produtividade das culturas através da nutrição da planta, devido à fixação biológica de nitrogênio atmosférico e também da produção de fito-hormônios que atuam no sistema radicular das plantas (DOBBELAERE *et al.*, 2003).

Dentre as espécies de bactérias diazotróficas, há o *Azospirillum brasilense*, que além de ser uma ótima fixadora de nitrogênio, também desempenha variados estímulos nas gramíneas principalmente no milho. Entre os estímulos, estão produção de hormônios vegetais, solubilização de fósforo, promotor de crescimento das raízes, aumento nos teores de clorofila e condutância estomática e alterações nas atividades fotossintéticas das plantas (FUKAMI *et al.*, 2016; KAZI *et al.*, 2016; HUNGRIA, 2011; GORDILLO-DELGADO *et al.*, 2016).

Vogel *et al.* (2013) afirmam que a espécie *Azospirillum brasilense* se destaca entre os outros tipos do gênero *Azospirillum* devido à maior variedade de estudos, visto que é uma bactéria que desempenha papel importante na produção das *Poaceae*, acarretando resultados satisfatórios.

A inoculação do *Azospirillum brasilense* pode ser realizada via foliar, com aplicação manual em períodos diferentes, ou diretamente na semente, aplicando o volume do inoculante proporcional à quantidade de sementes. Na aplicação via semente, a semeadura deve ser imediata.

### **3.4. Inoculação de *Azospirillum brasilense* em gramíneas**

Os estudos da inoculação de *Azospirillum brasilense* em plantas gramíneas acontece há décadas, principalmente, associado à adubação nitrogenada. Em 1979, Bouton e Zureber já buscavam dados relacionados ao efeito dessas bactérias no cultivo de *Panicum maximum*, relatando incremento de matéria seca aos 24 dias após a inoculação, sendo esse incremento maior que o verificado para o controle. Okon e Labandera-Gonzales (1994) verificaram o incremento de 40 kg N ha<sup>-1</sup>, com a utilização destas bactérias, tanto na *Panicum maximum* quanto na *Pennisetum americanum*.

Quanto à cultura do arroz, Vogel *et al.* (2013) concluíram que a aplicação do *Azospirillum brasilense* apresentou resultados animadores, contribuindo tanto para o aspecto morfológico quanto para a produção de grãos.

Em pesquisas recentes, Ribeiro *et al.* (2018), estudando os tipos de aplicação do inoculante de *Azospirillum brasilense* associado ao incremento de nitrogênio em trigo, observaram que tanto a inoculação via semente quanto a foliar não apresentaram efeitos significativos no rendimento ou produção dos grãos de trigo.

Em plantas de milho, esta associação também é bastante estudada. Dartora *et al.* (2013) encontraram resultados satisfatórios de matéria seca da parte aérea nesta cultura até a dose de nitrogênio de 118 kg ha<sup>-1</sup> em adubação de cobertura, porém, acima disso os resultados foram decrescentes.

Martins *et al.* (2018) verificaram aumento no crescimento e produção do milho de pipoca crioulo quando inoculado com *A. brasilense*, em todas as doses de nitrogênio analisadas (50, 100 e 150 kg N ha<sup>-1</sup>). Eles avaliaram altura de planta, número de folhas, número de espigas por planta, diâmetro e comprimento das espigas, além de espigas afetadas por pragas e doenças.

Estudando um híbrido de milho (Pioneer 30K73), Rockenbach *et al.* (2017) já não encontraram efeito significativo da inoculação de *Azospirillum brasilense* nos tratamentos de adição de nitrogênio para os componentes morfológicos, de produção e produtividade mensurados, exceto, para o diâmetro das espigas.

Embora as pesquisas envolvendo a associação de *Azospirillum* com adubação nitrogenada sejam amplas, é necessário estudar o uso desta bactéria associado a outros aspectos, principalmente, em ambientes onde a água seja um fator escasso, necessitando o uso de outras fontes de água de qualidade inferior, como é o caso das águas salinas. Nessa perspectiva, os estudos ainda são poucos.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Localização da área experimental

A pesquisa foi conduzida em casa de vegetação da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, localizada no município de Campina Grande-PB, sob as seguintes coordenadas geográficas: 7°13'11”S e 35°52'31”W e altitude de 550 m. Segundo o Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2020), o município apresenta precipitação média anual de 802,7 mm, temperatura máxima de 27,5 °C, mínima de 19,2 °C e umidade relativa do ar de 83%. De acordo com a classificação climática de Köppen, adaptada ao Brasil (COELHO; SONCIN, 1982), é do tipo “CSa”, ou seja, semiúmido, com verão quente e seco (4 a 5 meses) e chuvas de outono e inverno.

### 4.2. Cultivar utilizada e tratos culturais

No experimento utilizou-se a variedade NS 50 PRO de milho, de uso comum em todas as regiões do Brasil. No Nordeste, sua produção se concentra no Sul do Piauí e Maranhão, além do Oeste do estado da Bahia (NIDERA SEMENTES, 2020). É uma variedade de ciclo superprecoce, apresentando altas produtividades, com qualidade de grão, e alta capacidade de enraizamento (NIDERA SEMENTES, 2020).

Utilizou-se solo coletado de uma área localizada no município de Alagoa Nova, Estado da Paraíba. Foi analisado no Laboratório de Irrigação e Salinidade (LIS) – UFCG, Campina Grande – PB, a fim de verificar as propriedades físicas e químicas, descritas nas tabelas abaixo.

**Tabela 3 - Fertilidade e propriedades químicas do solo**

pH	P	S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	H <sup>+</sup> +Al <sup>3+</sup>	Al <sup>3+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	SB	CTC	M.O.
H <sub>2</sub> O(1:2,5)	-----	mg/dm <sup>3</sup>	-----	-----	-----cmol/dm <sup>3</sup> -----			-----	-----	-----	g/kg
5,1	2,91	-	32,01	0,04	7,46	0,90	1,40	1,37	2,89	10,35	16,24

**Tabela 4 - Propriedades físicas do solo**

Areia 2-0,05 mm	Silte 0,05 - 0,002 mm	Argila < 0,002 mm	Densidade do Solo	Densidade de Partículas	Porosidade Total	Umidade Mpa						CLASSE TEXTURAL	
						0,01	0,03	0,10	0,30	0,50	1,00		1,50
-----g/kg-----			--g/cm <sup>3</sup> --	--g/cm <sup>3</sup> --	--m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> --	-----g/kg-----							
686	118	196	-	-	-	164	109	100	95	93	90	81	Franco Arenosa

Os vasos foram preenchidos, com uma camada de 3 cm de brita na parte inferior, em seguida, com 20 kg de solo. As unidades experimentais foram dispostas em fileira simples, espaçados 1 m entre plantas e 0,7 m entre linhas.

Devido à presença de pH ácido (5,1), o solo foi submetido à correção de pH com a utilização de calcário dolomítico, sendo incubado por 30 dias (Figura 1). Após este período, foram realizadas análises do pH em laboratório para cada vaso.



Figura 1 - Correção de pH do solo com calcário dolomítico.

Com base na recomendação de Novais *et al.* (1991), o solo foi adubado com nitrogênio, fósforo e potássio, levando-se em consideração a curva de absorção de nutrientes do milho.

A semeadura aconteceu manualmente, colocando-se 5 sementes por vaso de polietileno, com capacidade de 20 L, contendo uma mangueira transparente de 5 mm de

diâmetro conectada a sua base, para a drenagem. Aos 10 dias após a emergência (DAE), permaneceu apenas uma planta por vaso, sendo considerada a que apresentou maior vigor vegetativo.

O controle de pragas e doenças foi realizado com o uso de produtos específicos, quando necessário, ao longo do ciclo da cultura.

#### **4.3. Preparo da inoculação**

As sementes foram inoculadas com a estirpe de *Azospirillum brasilense*, cedidas pela Total Biotecnologia Indústria e Comércio, Curitiba-PR. Para a inoculação foi utilizada a metodologia indicada pela empresa, que consiste em misturar as sementes à substância até que todas sejam envolvidas por uma camada uniforme do inoculante, em proporção de 16 mL da substância em 10.000 sementes. Todo esse procedimento foi realizado à sombra. As sementes foram semeadas logo a seguir.

#### **4.4. Delineamento experimental**

O arranjo experimental foi realizado em blocos casualizados (DBC) com arranjo fatorial 3x5, com 4 repetições, sendo os tratamentos: A0 (testemunha sem inoculação); A1 (inoculado com *Azospirillum brasilense*, com a dose de 0.32 mL); T2 (inoculado com a dose de 0.48 mL); e cinco níveis de CEa de irrigação (0.3; 0.6; 1.1; 1.7; 2.3 dS m<sup>-1</sup>), totalizando 60 unidades experimentais.

#### **4.5. Preparo da água de irrigação**

A solução foi preparada de modo a se ter uma proporção equivalente de 7:2:1, entre Na:Ca:Mg, respectivamente, a partir dos sais NaCl, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O e MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, relação esta predominante aos íons em fontes de água utilizada para irrigação, em pequenas propriedades do Nordeste brasileiro (MEDEIROS, 1992; AUDRY; SUASSUNA, 1995).

Para tanto, no preparo da água de irrigação, foi considerada a relação entre CEa e concentração de sais ( $10 \cdot \text{meq L}^{-1} = 1 \text{ dS m}^{-1}$  de CEa), extraída de Rhoades *et al.* (1992), tendo como base a água de abastecimento, existente no local. Após preparação, as águas foram armazenadas em recipientes plásticos de 500L, devidamente protegidos, evitando-se a evaporação, a entrada de água de chuva e a contaminação com materiais que podem comprometer sua qualidade. Para preparo da água, com a devida condutividade elétrica (CE), os sais foram pesados, conforme tratamento, adicionando-se água até atingir o nível

desejado de CE, conferindo-se os valores com um condutivímetro portátil que teve condutividade ajustada à temperatura de 25 °C.

#### **4.6. Manejo da irrigação**

O volume de água aplicado inicialmente para manter o solo em capacidade de campo foi calculado em função da Curva de Retenção de Umidade no Solo, realizado em laboratório (Tabela 4). O consumo de água foi determinado pela diferença entre o volume de água aplicado e o drenado, estimando-se o volume de água a ser aplicado no próximo evento de irrigação.

A cada semana aplicou-se uma fração de lixiviação de 15% (AYERS; WESTCOT, 1999), em que serviu de monitoramento dos níveis de salinidade na zona radicular das plantas. Esse monitoramento foi realizado através de equação proposta por Szabolcs (1989) (Equação 1). O volume drenado foi coletado individualmente e levado ao Laboratório de Fisiologia Vegetal, para determinar a condutividade elétrica.

$$VI = \frac{VA-VD}{1-FL} \quad (1)$$

Em que:

VI - Volume de água a ser aplicado na irrigação (mL)

VA - Volume de água aplicado na irrigação anterior ou no período (mL)

VD - Volume de água drenado na irrigação anterior ou no período (mL)

FL - Fração de lixiviação (0,15)

Antes da sementeira, colocou-se o solo em capacidade de campo, com o objetivo de homogeneizar as condições hídricas de cada tratamento. As plantas foram irrigadas de acordo com a necessidade hídrica ao longo do ciclo da cultura.

#### **4.7. Variáveis avaliadas**

##### **4.7.1. Dados de Emergência/Vigor**

A avaliação de emergência foi realizada, diariamente, até o décimo dia após a emergência (DAE).

##### **a) Percentagem de Emergência - PE (MAPA, 2009)**

$$PE = \frac{N}{A} \times 100 \quad (2)$$

Sendo: N – Número de sementes emergidas; A – Número total de sementes colocadas para germinar.

**b) Índice de velocidade de emergência – IVE (MAGUIRE, 1962).**

$$IVE = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n} \quad (3)$$

Sendo: G1, G2 e Gn – Número de sementes emergidas na 1ª, 2ª, até a última contagem.

#### **4.7.2. Dados de crescimento**

Os dados de crescimento foram avaliados em três períodos, a cada 15 dias entre os estádios vegetativos V8 (oito folhas desenvolvidas), V10 (dez folhas desenvolvidas) e Vt (pendoamento):

**a) Altura da planta (AP):** determinada entre o nível do solo e o meristema apical do colmo, usando uma trena graduada em centímetros.

**b) Diâmetro caulinar (DC):** Medido acima do nível do solo, com o auxílio do paquímetro, em milímetros.

**c) Número de folhas (NF):** Contagem do número de folhas.

**d) Área foliar (AF):** Valor individual estimado por meio de medidas lineares, conforme equação 4 propostas por Tollenaar (1992):

$$AF = C \times L \times 0.75 \quad (4)$$

Onde:

AF = Área foliar folha<sup>-1</sup>, cm<sup>2</sup>.

C = Comprimento da nervura principal da folha do milho, cm.

L = Largura perpendicular à nervura principal da folha do milho, cm.

**e) Massa seca das folhas, colmo, pendão e raízes**

Ao final da maturação fisiológica da cultura, foram coletadas as folhas, colmo, pendão e raízes, acondicionadas em sacos de papel, seguindo para o laboratório e submetidas à pesagem da massa seca. Somente a secagem das raízes se realizou na estufa de circulação forçada de ar à temperatura média de 65°C, até atingir massa constante.

### 4.7.3. Dados Fisiológicos

**a) Fluorescência:** realizou-se no final da fase vegetativa (pendoamento) para análise dos parâmetros de emissão da fluorescência da clorofila, em folhas pré-adaptadas ao escuro por 30 minutos, com uso de um fluorômetro de pulso modulado, modelo OS5p da Opti Science, determinando-se os valores de fluorescências inicial ( $F_o$ ), máxima ( $F_m$ ), variável ( $F_v$ ), eficiência quântica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ).

**b) Trocas gasosas**

As variáveis de trocas gasosas das plantas envolvem os processos de fotossíntese, transpiração e condutância estomática, as quais foram mensuradas com uso do equipamento conhecido como IRGA, marca ADC, modelo LCpro - SD. Tais avaliações nas plantas aconteceram entre 08:00 e 10:00 hs da manhã. Ao aparelho acoplou-se uma fonte de luz artificial de modo a se obter uma densidade de fluxo de fótons fotossintéticos de  $1200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . As avaliações se deram em folhas completamente expandidas e não sombreadas.

Foram obtidas as leituras das seguintes variáveis: condutância estomática ( $g_s$ ) ( $\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), fotossíntese líquida ( $A$ ) ( $\mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), transpiração ( $E$ ) ( $\text{mmol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) e concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) ( $\mu\text{mol.mol}^{-1}$ ). Por meio da relação entre a fotossíntese líquida ( $A$ ) e a transpiração ( $E$ ), chegou-se à eficiência instantânea no uso da água ( $E_i\text{UA}$ ) e a eficiência instantânea da carboxilação ( $E_i\text{C}$ ) foi obtida pela relação  $A/C_i$ .

**c) Índice SPAD:** determina o teor relativo de clorofila nas folhas. As leituras foram realizadas na mesma folha das leituras de trocas gasosas, tomando-se quatro leituras por folha. Utilizou-se um clorofilômetro portátil, modelo SPAD 502, Minolta, Japão.

**d) Extração de Pigmentos:** Os teores de clorofilas a e b, total e os carotenoides foram quantificados por meio da extração, em amostras de folhas frescas, que, após pesadas, foram picotadas e colocadas em recipientes contendo 6 mL de acetona 80%, sendo mantidas no escuro e em refrigerador durante 48 horas. Em seguida, foram coletados os sobrenadantes contendo os pigmentos extraídos e se procedeu as leituras de absorbâncias em espectrofotômetro a 470, 645 e 663 nanômetros, conforme (ARNON, 1949; LICHTENTHÄLER, 1987). Determinou-se a clorofila total pela soma dos conteúdos de clorofila **a** e clorofila **b**. Os conteúdos de clorofila **a** e **b**, e carotenoides foram calculados pelas equações (LICHTENTHÄLER, 1987) e seus valores expressos em  $\mu\text{m g}^{-1}$  MF.

$$\text{Clorofila a} = (12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) \quad (7)$$

$$\text{Clorofila b} = (22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}) \quad (8)$$

$$\text{Clorofila total} = \text{Clorofila a} + \text{Clorofila b} \quad (9)$$

$$\text{Carotenoides totais} = (1000 \times A_{470} - 1,82 \text{ Cl a} - 85,02 \text{ Cl b})/198 \quad (10)$$

Os valores das equações acima estão expressos em  $\mu\text{g}$  de pigmento, por mL de extrato.

#### e) Extravasamento de eletrólitos (EE%)

Realizou-se o extravasamento de eletrólitos no pendoamento. Foram coletados das folhas localizadas, na parte mediana do caule, 10 discos foliares de 0,771mm, lavados com água destilada visando a retirada de outros eletrólitos aderidos às folhas. Depois, sendo acondicionados em beckers com 50 mL de água bidestilada e fechados hermeticamente com papel alumínio. Os beckers ficaram submetidos à temperatura ambiente de aproximadamente 25°C, por 90 minutos, e procedeu-se a leitura da condutividade elétrica inicial (Ci). Posteriormente, os beckers foram para a estufa, com ventilação forçada de ar, e submetidos à temperatura de 80°C, durante 90 minutos, quando então se fez de novo a mensuração da condutividade elétrica final (Cf).

Desta forma, o extravasamento de eletrólitos na membrana celular é obtido de acordo com Scott Campos e Thu Pham Thi (1997), conforme Eq. (11):

$$EE = (Ci / Cf) \times 100 \quad (11)$$

Em que:

EE = extravasamento de eletrólitos na membrana (%);

Ci= condutividade elétrica inicial ( $\text{dS m}^{-1}$ );

Cf= condutividade elétrica final ( $\text{dS m}^{-1}$ );

**f) Teor relativo de água nas folhas (TRA):** foram retirados 5 discos de uma folha em cada repetição, pesando-os e anotando a massa fresca inicial (PF). Em seguida, os discos ficaram em um becker contendo água destilada por 24 horas em repouso. Após esse período, foram pesados novamente para obter o peso túrgido (PT), e logo expostos ao ar livre para enxugar a água superficial. Em seguida, foram para estufa de ventilação forçada, com temperatura de 75°, por 24 horas, para a determinação do peso seco (PS). Com esses dados, o teor relativo de água foi determinado através da equação proposta por Barrs e Weatherley (1962):

$$TRA = \frac{PF-PS}{PT-PS} \times 100 \quad (12)$$

#### 4.7.4. Dados de produção

No final do ciclo vegetativo foram avaliados os seguintes dados de produção: massa seca total da espiga, número de espigas por planta, número de grãos por espiga, diâmetro e comprimento da espiga, massa seca de grãos por espiga, além do índice de colheita através da seguinte equação (PEREIRA; MACHADO, 1987):

$$IC = \frac{PSG}{PST} \quad (13)$$

Em que: IC – índice de colheita; PSG – Peso seco dos grãos; PST – Peso seco total das plantas, que equivale ao somatório das massas secas das folhas, colmo, pendão e raízes.

#### 4.8. Análise Estatística

Os resultados das variáveis determinadas durante o ciclo do milho foram submetidos à análise de variância, através do software estatístico SISVAR, e o nível de significância pela análise do teste “F”. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (FERREIRA, 2011).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Emergência/Vigor

A percentagem de emergência (PE) e o índice de velocidade de emergência (IVE) não foram afetados pelos fatores de variação analisados (Tabela 5). Para tanto, o valor médio de PE foi de 92%, indicando uma ótima emergência de plântulas de milho, o que provavelmente denota que, neste estágio inicial, tanto a aplicação do inoculante bacteriano quanto os níveis crescentes de salinidade da água de irrigação não apresentam capacidade de influenciar a emergência da cultivar de milho utilizada.

**Tabela 5 - Resumo da Análise de Variância referente à percentagem de emergência (PE) e índice de velocidade de emergência (IVE) de plantas de milho submetidas a doses de *Azospirillum brasilense* associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).**

Fontes de Variação	GL	ANAVA – Emergência/Vigor	
		PE ---%---	IVE -----
Salinidade (S)	4	0.3808 <sup>ns</sup>	0.2854 <sup>ns</sup>
<i>Azospirillum</i> (A)	2	0.4407 <sup>ns</sup>	0.4421 <sup>ns</sup>
S x A	8	0.5089 <sup>ns</sup>	0.6721 <sup>ns</sup>
Bloco	3	0.3195 <sup>ns</sup>	0.4282 <sup>ns</sup>
CV (%)		37.60	37.41

CV – coeficiente de variação; ns – não significativo.

Avaliando a qualidade das sementes de quatro variedades de milho inoculadas por *A. brasilense*, Pereira *et al.* (2015), embora tenham verificado efeito significativo da inoculação sobre PE e IVE, consideraram uma diferença muito pequena, concluindo que esses resultados geraram efeitos irrisórios entre os tratamentos.

Quanto a estudos referentes à salinidade no milho no estágio de germinação/emergência, há divergências nos resultados encontrados. Conus *et al.* (2009) não obtiveram efeitos significativos na germinação do milho quando submetida a potenciais osmóticos ( $\psi_s$ ) diferenciados, corroborando com os resultados obtidos na presente pesquisa. Porém, Barbieri *et al.* (2014) encontraram valores decrescentes de percentagem de germinação e índice de velocidade de germinação à medida que os  $\psi_s$  ficavam mais negativos.

## 5.2. Crescimento

Ao longo das avaliações de crescimento (Tabela 6), na altura de planta (AP), identificou-se efeito significativo do fator salinidade (S) nas duas primeiras avaliações (V8 e V10), não ocorrendo significância ( $p < 5\%$ ) para os fatores de *Azospirillum* (A) e interação (S x A).

Não houve efeito ( $p < 5\%$ ) dos fatores analisados sobre o parâmetro diâmetro do colmo (DC) em nenhuma avaliação (V8, V10 e Vt). Em estudos com a utilização de *A. brasilense*, em sementes de milho, Cunha *et al.* (2014) e Mumbach *et al.* (2017) não obtiveram respostas para DC, corroborando com os resultados obtidos no presente trabalho.

O número de folhas (NF) foi afetado significativamente pelos níveis de salinidade da água de irrigação nas avaliações de V8 e V10, enquanto a área foliar (AF) sofreu efeito deste fator isolado em todas as avaliações. Estatisticamente, NF e AF não apresentaram significância à 5% de probabilidade dos fatores de *Azospirillum* e interação.

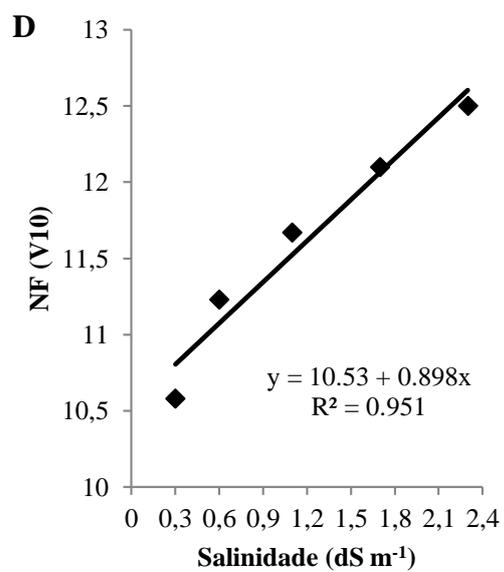
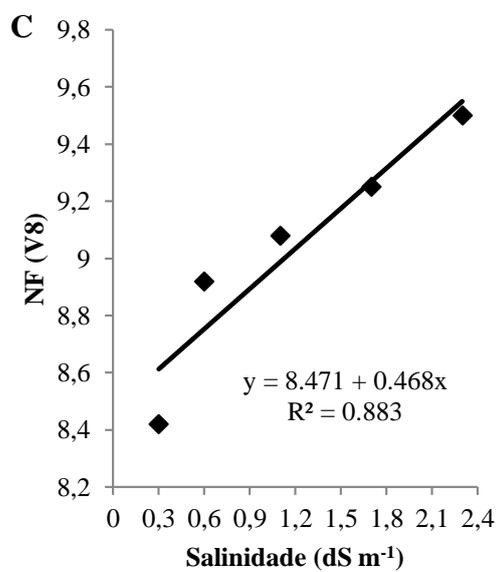
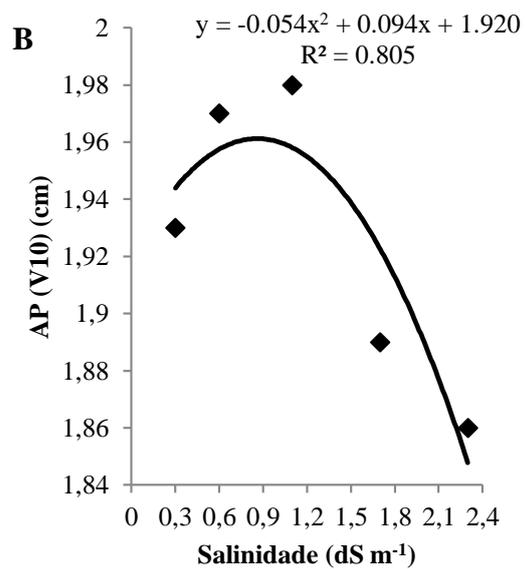
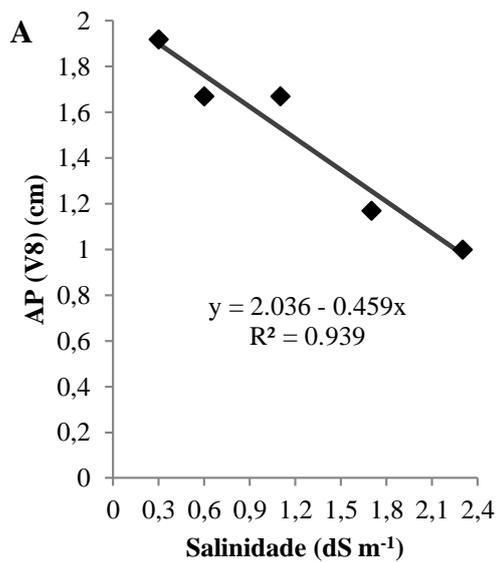
**Tabela 6 - Resumo da Análise de Variância referente à altura da planta (AP), diâmetro do colmo (DC), número de folhas (NF) e área foliar (AF) de milho nos estádios fenológicos V8, V10 e Vt, submetidas a doses de *Azospirillum brasilense* associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).**

Fontes de Variação	GL	ANAVA - Crescimento											
		AP (V8) cm	AP (V10) cm	AP (Vt) cm	DC (V8) mm	DC (V10) Mm	DC (Vt) mm	NF (V8) ---	NF (V10) ---	NF (Vt) ---	AF (V8) cm <sup>2</sup>	AF (V10) cm <sup>2</sup>	AF (Vt) cm <sup>2</sup>
Salinidade (S)	4	0.0000*	0.0301*	0.0516 <sup>ns</sup>	0.2451 <sup>ns</sup>	0.2606 <sup>ns</sup>	0.0705 <sup>ns</sup>	0.0192*	0.0000*	0.5760 <sup>ns</sup>	0.0000*	0.0000*	0.0000*
<i>Azospirillum</i> (A)	2	0.8902 <sup>ns</sup>	0.6556 <sup>ns</sup>	0.6988 <sup>ns</sup>	0.5529 <sup>ns</sup>	0.2177 <sup>ns</sup>	0.4185 <sup>ns</sup>	0.1815 <sup>ns</sup>	0.8018 <sup>ns</sup>	0.5783 <sup>ns</sup>	0.4173 <sup>ns</sup>	0.0574 <sup>ns</sup>	0.1235 <sup>ns</sup>
S x A	8	0.8087 <sup>ns</sup>	0.2147 <sup>ns</sup>	0.2015 <sup>ns</sup>	0.7263 <sup>ns</sup>	0.8495 <sup>ns</sup>	0.7066 <sup>ns</sup>	0.4405 <sup>ns</sup>	0.2200 <sup>ns</sup>	0.8933 <sup>ns</sup>	0.6201 <sup>ns</sup>	0.3955 <sup>ns</sup>	0.6558 <sup>ns</sup>
Bloco	3	0.0452*	0.0000*	0.0003*	0.0954 <sup>ns</sup>	0.5813 <sup>ns</sup>	0.1919 <sup>ns</sup>	0.0095*	0.0355*	0.0175*	0.0000*	0.1231 <sup>ns</sup>	0.0000*
CV (%)		25.48	5.50	5.60	6.95	6.87	5.96	8.57	6.21	14.39	5.90	5.95	9.43

CV – coeficiente de variação; ns – não significativo; \* - significativo a 5% de probabilidade.

Na primeira avaliação de AP (Figura 2A), que ocorreu no início do estágio vegetativo V8, percebe-se que houve um decréscimo linear à medida que os níveis de condutividade elétrica da água (CEa) foram aumentando. Já na segunda medição (Figura 2B), realizada após 15 dias da anterior, em que a maioria das plantas estava no estágio V10, observa-se um aumento quadrático de 3.7% de AP até a CEa de 1,1 dS m<sup>-1</sup>, ocorrendo um decréscimo efetivo após este nível. Tal tendência pode demonstrar que as doses de *Azospirillum brasilense*, quando associadas a níveis de CEa abaixo da salinidade limiar (SL) do milho (1,1 dS m<sup>-1</sup>), ajudam no seu crescimento após o estágio V8.

Nas figuras 2C e 2D, nota-se um aumento de 12.8% e 18.8% na contagem do número de folhas sadias (senescência menor que 50% do limbo foliar), quando relacionado à diferença entre o menor e maior nível de salinidade da água, o que pode estar ligado a um possível efeito de precocidade no desenvolvimento vegetativo destas plantas, quando submetidas a níveis elevados de sais, ou seja, reduzem seu crescimento em altura, contudo, desenvolvem a inserção de folhas mais rapidamente, podendo vir a ser considerado um mecanismo de adaptação à salinidade.



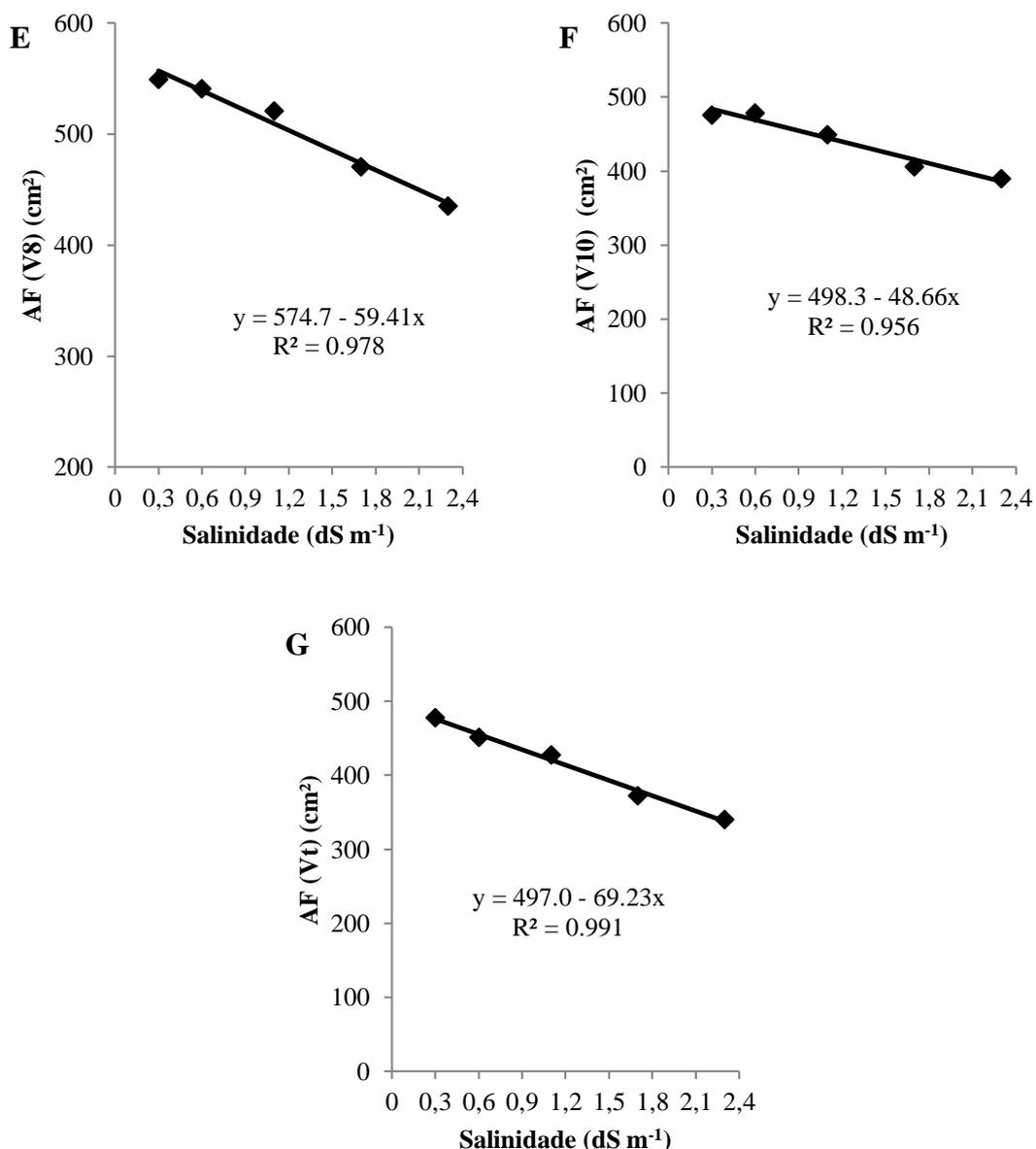


Figura 2 - Efeito dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a altura de planta (AP), número de folhas (NF) e área foliar (AF) do milho nas avaliações de crescimento V8, V10 e Vt.

Além disso, o inoculante bacteriano pode ter contribuído para manutenção da baixa senescência das folhas, mesmo sob salinidade, pois, de acordo com Lambrecht *et al.* (2000), estas bactérias, além de servirem de aporte de suplementação de nitrogênio, também produzem hormônios que estimulam o crescimento das plantas, e retardam a senescência foliar.

Sangoi *et al.* (2015), estudando a senescência foliar e teor de clorofila em folhas de milho, sob tratamento de sementes com *Azospirillum* e aplicação de nitrogênio, verificaram que a senescência se deu em maior quantidade nos tratamentos sem a inoculação (11.7), quando comparada com os tratamentos com inoculação (11.0).

Embora a quantidade de folhas (NF) tenha sido maior nos tratamentos de nível de CEa elevado, a área foliar (AF) sofreu redução linear com o aumento desses níveis de salinidade em V8, V10 e Vt (Figuras 2E, 2Fe 2G), o que pode estar relacionado ao menor desenvolvimento do limbo foliar, resultando em uma folha com baixo comprimento e largura.

Ricardi e Rosa (2018) estudaram o efeito da salinidade no desenvolvimento do milho, obtendo resultados na fase de pendoamento (Vt), em que ocorreu decréscimo da altura da planta, número de folhas e diâmetro do colmo, em virtude do aumento dos níveis de salinidade, não corroborando, em parte, com os resultados obtidos nesta pesquisa.

Outros autores, como Souza *et al.* (2014), também obtiveram resultados negativos quanto ao uso de águas salinas no cultivo de milho doce e milho de pipoca, concluindo que o desenvolvimento inicial (altura, diâmetro, número de folhas e área foliar) das duas cultivares foi afetado pelo aumento da salinidade da água de irrigação, variando somente qual a cultivar que se apresentou mais tolerante aos níveis salinos estudados.

Para justificar esses efeitos prejudiciais, estudiosos atribuem vários problemas. Entre eles, o mais comum é o aumento da pressão osmótica do solo, tornando-o mais negativo que o da planta, impossibilitando a absorção de água pelas raízes e afetando a sua divisão celular e alongamento das células (TAIZ; ZEIGER, 2009). Estes justificam ainda que a redução da área foliar pode ser uma defesa da planta cultivada em um meio salino, visando a redução da perda de água pela transpiração.

Como se pode perceber, pesquisas já demonstraram o efeito deletério da salinidade sobre os parâmetros de crescimento das plantas de milho, como altura, número de folhas, diâmetro do colmo e área foliar, contudo, ainda não houve estudos sobre a interação desse estresse abiótico com a aplicação do inoculante bacteriano de *Azospirillum brasilense*, como agente atenuador da salinidade em milho.

Martins *et al.* (2018), avaliando a interação entre inoculação de *Azospirillum brasilense* e doses de fertilizante nitrogenado em milho, observaram que, mesmo sem a aplicação do nitrogênio, ou seja, as plantas submetidas somente à aplicação do *A. brasilense* (testemunha) apresentaram um incremento de 22.4% em altura. Costa *et al.* (2015) e Kappes *et al.* (2013) também evidenciaram aumento do crescimento destas plantas, quando submetidas só à inoculação, obtendo resultados de acréscimo de altura, em média, de 10% e 5.84%, respectivamente.

Tais resultados, provavelmente, podem justificar os obtidos na presente pesquisa, pois, a partir do estágio V8, mesmo as plantas estando sob salinidade, ocorreu um

acréscimo de AP (Figura 2B) até a CEa de 1.1 dS m<sup>-1</sup>, o que pode demonstrar, talvez, uma mitigação do efeito salino até neste nível, através da utilização do inoculante bacteriano.

Verificando os fatores isolados S e A, além da interação (S x A), para as variáveis de massa seca das folhas (MSF), colmo (MSC), pendão (MSP) e raízes (MSR), constatou-se que houve efeito significativo (p<5%) dos níveis crescentes de sais sobre MSF e MSC, além do efeito de interação para MSR (Tabela 7).

**Tabela 7 - Resumo da Análise de Variância referente às massas secas das folhas (MSF), do colmo (MSC), do pendão (MSP) e das raízes (MSR), submetidas a doses de *Azospirillum brasilense* associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).**

Fontes de Variação	GL	ANAVA – Massas Secas das Folhas, Colmo, Pendão e Raízes			
		MSF ---g---	MSC ---g---	MSP ---g---	MSR ---g---
Salinidade (S)	4	0.0000*	0.0157*	0.1295 <sup>ns</sup>	0.0000*
<i>Azospirillum</i> (A)	2	0.2209 <sup>ns</sup>	0.1784 <sup>ns</sup>	0.7913 <sup>ns</sup>	0.0000*
S x A	8	0.3516 <sup>ns</sup>	0.7820 <sup>ns</sup>	0.2642 <sup>ns</sup>	0.0016*
Bloco	3	0.5958 <sup>ns</sup>	0.5451 <sup>ns</sup>	0.2189 <sup>ns</sup>	0.6750 <sup>ns</sup>
CV (%)		12.40	27.90	20.05	18.68

CV – coeficiente de variação; ns – não significativo; \* - significativo a 5% de probabilidade.

A massa seca das folhas (MSF) apresentou um incremento quadrático de 30.2%, com o aumento dos níveis de CEa, variando entre 37.94g (0.3 dS m<sup>-1</sup>) e 49.50g (2.3 dS m<sup>-1</sup>) (Figura 3A). Já a massa seca do colmo obteve redução linear à medida que os níveis de sais da água de irrigação aumentaram (Figura 3B), com obtenção de valores médios entre a CEa de 0.3 dS m<sup>-1</sup> e 2.3 dS m<sup>-1</sup>, variando de 136.83g e 98.09g, respectivamente.

Em geral, o efeito da salinidade sobre a parte aérea das plantas de milho é danoso, ocorrendo redução da biomassa seca das folhas, colmo e pendão (SILVA, 2016; SOUZA *et al.*, 2014; RICARDI; ROSA, 2018). Contudo, a aplicação usual de *Azospirillum brasilense* em milho provoca o contrário (OKON; VANDERLEYDEN, 1997; VERONA *et al.*, 2010; BRACCINI *et al.*, 2012; QUADROS *et al.*, 2014; MARINI *et al.*, 2015; PICAZEVICZ, 2017), o que pode justificar o incremento de MSF (Figura 3A), traduzindo um eventual efeito atenuador dessas bactérias sobre os possíveis danos da salinidade nas folhas, uma vez que as espécies bacterianas de *Azospirillum brasilense* estão diretamente ligadas à solubilização de nutrientes e produção de fitohormônios relacionados ao crescimento das plantas, como auxinas, giberelinas e citocininas (PICAZEVICZ, 2017).

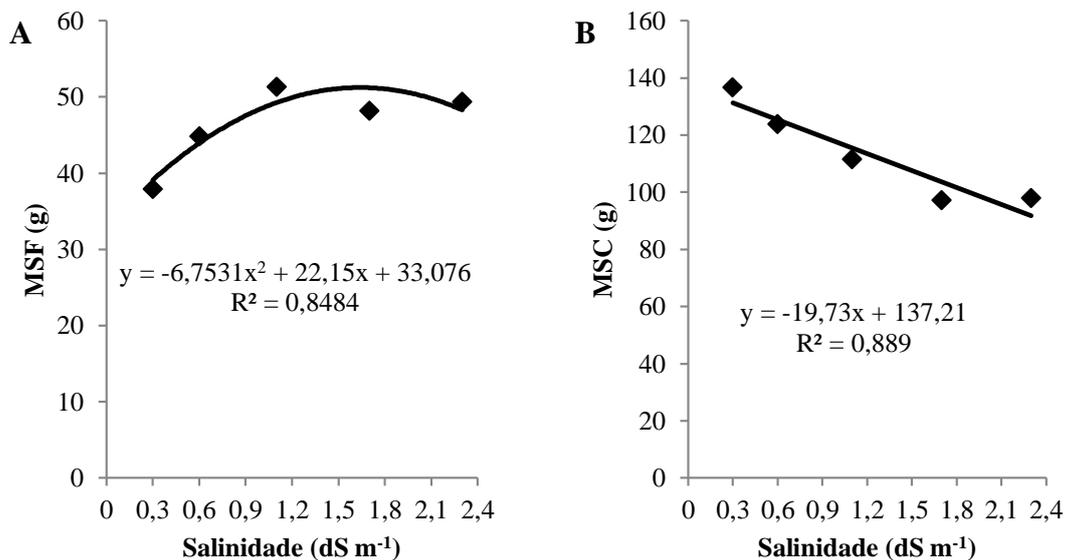


Figura 3 - Efeito dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre as massas secas das folhas (MSF) e do colmo (MSC) do milho.

Conforme a Figura 4, analisando o desdobramento das doses de *Azospirillum brasilense* em cada nível de CEa, verifica-se que as doses crescentes do inoculante, principalmente a de 0,48 mL, influenciaram de forma positiva no incremento de MSR, em todas as CEa estudadas (0,3; 0,6; 1,1; 1,7 e 2,3 dS m<sup>-1</sup>), apresentando aumento de 30,11%, 49,79%, 15,80%, 40,92% e 81,89%, respectivamente. Provocando assim, uma possível mitigação dos efeitos adversos da salinidade sobre o crescimento das plantas de milho, através do incremento de um sistema radicular maior, aumentando desta forma sua superfície de contato e, conseqüentemente, de absorção de água e nutrientes.

Como o sistema radicular é o principal meio de absorção de água e nutrientes pelas plantas, estes resultados obtidos para MSR podem justificar outros encontrados nesta pesquisa. Por exemplo, o acréscimo da altura de planta até a salinidade de 1,1 dS m<sup>-1</sup> (Figura 2B) e o aumento da quantidade de número de folhas sadias (Figura 2C e 2D), além do incremento de MSF (Figura 3A), demonstrando que, mesmo submetidas ao estresse salino, as plantas conseguiram, provavelmente, manter suas atividades bioquímicas e fisiológicas inerentes ao crescimento, mesmo que de maneira lenta.

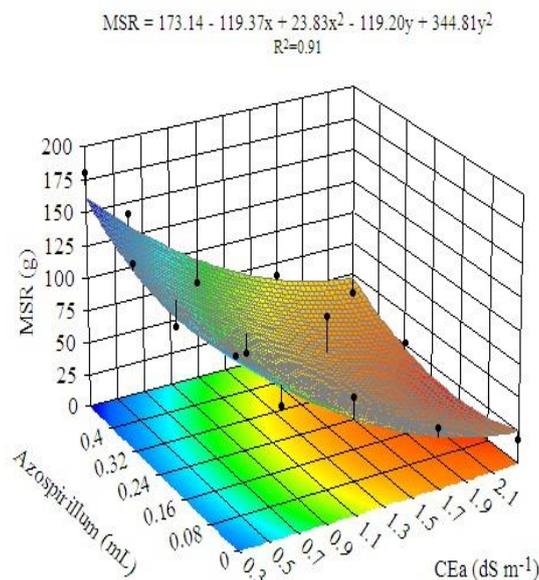


Figura 4 - Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a massa seca das raízes (MSR) do milho.

Segundo Miyachi *et al.* (2008) e Spaepen e Vanderleyden (2015), a auxina é o fitohormônio produzido pelo *Azospirillum brasilense* que está relacionado ao incremento do sistema radicular das plantas, provocando mudanças morfológicas, como aumento de comprimento, ramificações e pelos radiculares. Além disso, outros autores atribuem mais efeitos positivos dessas bactérias quando aplicadas em milho, como aumento da atividade da redutase do  $\text{NO}_3^-$  nas raízes, fixação de N atmosférico e agente biológico controlador de patógenos (GARCIA *et al.*, 1996; RUSSO *et al.*, 2008; HUNGRIA, 2011).

Estudos comprovam a eficácia das bactérias de *Azospirillum brasilense* no incremento de massa seca das raízes. Okon e Vanderleyden (1997), baseados em estudos de 22 anos, analisaram a inoculação de *Azospirillum* em plantas cultivadas no campo, concluindo que além dessas bactérias proporcionarem rendimentos positivos, em diversas condições de clima e solo, também aumentam a superfície de absorção das raízes e, com isso, maior exploração do solo. Para Rethati *et al.* (2000), um aumento benéfico das raízes primárias e secundárias foi observado na cultura do arroz.

Costa *et al.*, (2015), estudando a eficiência da inoculação destas bactérias em sementes de milho, observaram um incremento de 123% de MSR quando comparado com o controle. Domingues Neto *et al.* (2013), verificando a aplicação destas bactérias via foliar, também obtiveram acréscimo de MSR na cultura do milho.

### 5.3. Análises fisiológicas

#### 5.3.1. Fluorescência da Clorofila *a*

Na fase vegetativa Vt (pendoamento) observa-se o efeito significativo ( $p < 5\%$ ) da interação Salinidade x *Azospirillum* nos parâmetros avaliados das fluorescências inicial (Fo), máxima (Fm) e variável (Fv). Na variável de eficiência quântica do fotossistema II (Fv/m) se destacou a significância estatística de 5% de probabilidade para os fatores isolados S e A (Tabela 8).

**Tabela 8 - Resumo da Análise de Variância referente à fluorescência das folhas de milho, submetidas a doses de *Azospirillum brasilense* associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).**

Fontes de Variação	GL	ANAVA – Fluorescência			
		Fo	Fm	Fv	Fv/m
Salinidade (S)	4	0.0866 <sup>ns</sup>	0.0390*	0.0007*	0.0009*
<i>Azospirillum</i> (A)	2	0.0159*	0.3406 <sup>ns</sup>	0.0194*	0.0030*
S x A	8	0.0000*	0.0001*	0.0011*	0.5247 <sup>ns</sup>
Bloco	3	0.2487 <sup>ns</sup>	0.9469 <sup>ns</sup>	0.9121 <sup>ns</sup>	0.5901 <sup>ns</sup>
CV (%)		3.19	3.03	4.01	2.82

cv – coeficiente de variação; ns – não significativo; \* - significativo a 5% de probabilidade.

Embora os resultados dos parâmetros Fo, Fm e Fv tenham apresentados tendências semelhantes (Figura 5A, 5B e 5C), a análise e explicação devem ser de maneira individual e dependem do entendimento da fase fotoquímica da fotossíntese, pois cada um desses parâmetros demonstram atividades diferentes no funcionamento do fotossistema II (FSII).

O processo fotossintético é dividido em duas fases: fotoquímica e bioquímica. A fotoquímica se inicia a partir da absorção de luz, através do complexo antena (clorofilas *a* e *b*, carotenoides) localizado no fotossistema II. Sendo assim, quando o pigmento presente no complexo antena absorve a luz em forma de fótons, provoca um estado de excitação no centro de reação P680\* (par especial), ou seja, os elétrons de um estado de menor energia (P680) são levados para um de maior energia (P680\*). Quando excitado, o P680\* se torna um ótimo doador de elétrons, transferindo-os para aceptores primários de elétrons, como a quinona (QA). Essa perda de elétrons é repostada através da oxidação da molécula de água (H<sub>2</sub>O), liberando O<sub>2</sub>, e<sup>-</sup> e H<sup>+</sup>. A partir de QA, os elétrons são transferidos para a cadeia transportadora (CTE), que passam por reações de oxi-redução, chegando até o fotossistema I, que é o responsável pela redução do NADP<sup>+</sup> em NADPH, que juntamente com o ATP, são essenciais para o prosseguimento do processo de fotossíntese na fase bioquímica.

A fluorescência inicial ( $F_o$ ) é estimada, de acordo com Baker e Rosenqvst (2004), quando todos os centros de reação de FSII estão abertos e a molécula orgânica Quinona está em seu máximo estado de oxidação, ou seja, todos os elétrons foram transportados, o que é ocasionado devido a um breve período sem atividade, isto é, na ausência de luz. Estes autores ainda constataam que o aumento de  $F_o$  indica o comprometimento dos campos de reação de FSII ou a redução na transferência de energia, advinda do complexo antena para os centros de reação, o que pode ser a causa dos resultados de  $F_o$  obtidos nesta pesquisa. Visto que, quando se analisa o desdobramento de *Azospirillum* (A) dentro de cada salinidade (S) (Figura 5A), observa-se um incremento de  $F_o$  em cada CEa, em razão do aumento das doses bacterianas estudadas (0, 0.32 e 0.48 mL), o que também denota que o inoculante não evitou ou mitigou o efeito dos sais nesta variável.

Assim como  $F_o$ , a fluorescência máxima ( $F_m$ ) apresentou uma tendência crescente (Figura 5B), em análise da aplicação das doses do inoculante bacteriano associado aos níveis de sais de forma individual. No entanto, estes resultados demonstram efeito positivo, pois, conforme Silva *et al.* (2006), a diminuição da intensidade de  $F_m$  evidencia a deficiência de fotorredução da molécula receptora de elétrons QA, prejudicando a transferência de  $e^-$  para o fotossistema I. Diante disto, supõe-se que um dos fatores preponderantes para o aumento de  $F_m$  tenha sido ocasionado pela liberação de elétrons através da oxidação da molécula de  $H_2O$ , repondo os  $e^-$  perdidos pela QA. Além disso, essa manutenção da oxidação de  $H_2O$  pode estar relacionada ao aumento do sistema radicular das plantas (Figura 4), em virtude da aplicação do inoculante bacteriano, o que pode ter influenciado na absorção de água em meio salino.

Na figura 5C, em análise de desdobramento (A inserido em S), também se verifica aumento do parâmetro fluorescência variável ( $F_v$ ), em cada nível de CEa, à medida que se aumenta as doses de *A. brasilense*, sugerindo, provavelmente, que a atividade fotoquímica das folhas não foi totalmente prejudicada, pois, de acordo com Baker (2008), o aumento de  $F_v$  indica que ocorreu a transferência dos elétrons de um orbital menos para um mais energizado, demonstrando a capacidade da planta em transferir a energia oriunda dessa excitação de elétrons para a formação do agente redutor NADPH, ATP e ferredoxina reduzida (Fdr), provocando, conseqüentemente, maior assimilação de  $CO_2$  na etapa bioquímica da fotossíntese.

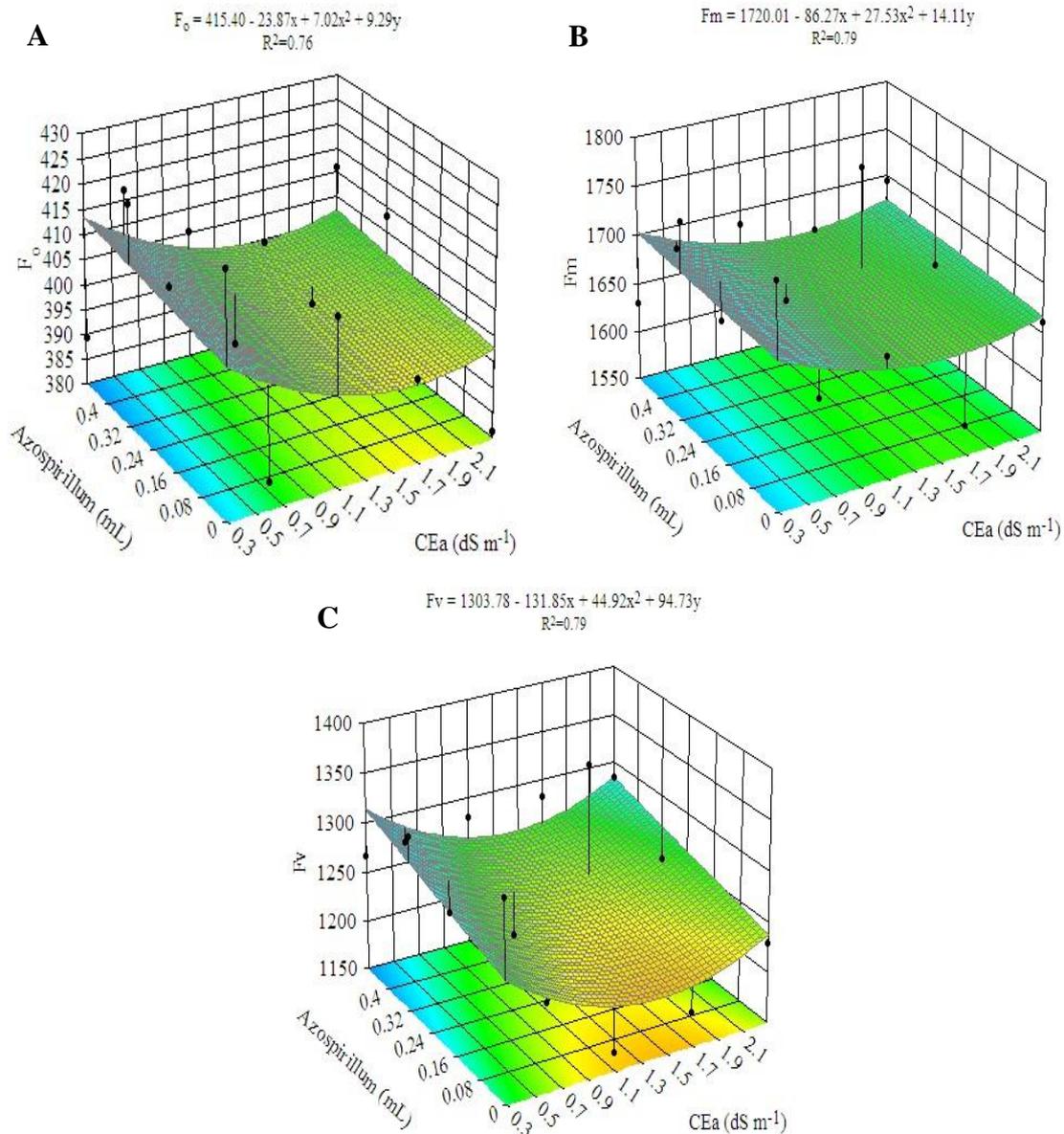


Figura 5 - Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre fluorescência das folhas do milho.

A eficiência quântica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) é de suma importância nos estudos de fluorescência da clorofila *a*, pois indica possíveis perturbações que venham a ser ocasionadas por estresses bióticos ou abióticos no processo de fotossíntese, uma vez que a redução de  $F_v/F_m$  denota inibição da atividade fotoquímica das plantas (PEREIRA *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2014). Além disso, Baker e Rosenqvist (2004) constataram que valores abaixo de 0.75 elétrons quantum<sup>-1</sup> de  $F_v/F_m$  indicam dano ao aparato fotossintético. Diante destas afirmações, presume-se que, embora as doses de *Azospirillum* tenham provocado aumento crescente linear da eficiência de FSII, a partir de 0.74 elétrons quantum<sup>-1</sup> (Figura 6B), as plantas de milho ainda sofreram distúrbios no

seu aparato fotossintético, quando submetidas às salinidades de 1.7 e 2.3 dS m<sup>-1</sup>, com valores de 0.72 e 0.71 elétrons quantum<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 6A).

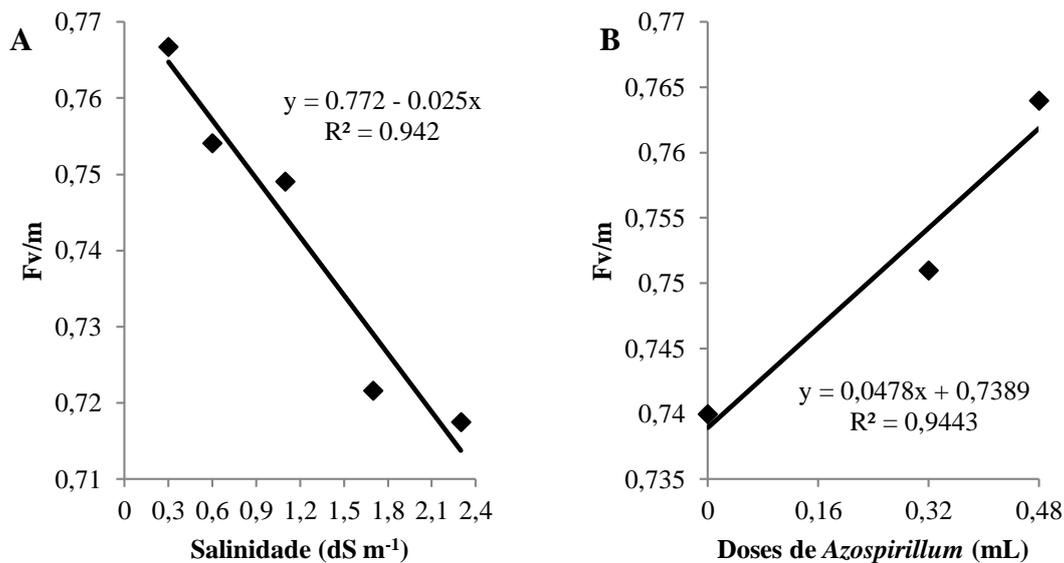


Figura 6 - Efeito dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a eficiência quântica do fotossistema II (Fv/m).

Infelizmente, estudos sobre fluorescência da clorofila *a* em milho submetido à salinidade e/ou *Azospirillum brasilense* são escassos ou não existem. Contudo, este parâmetro fisiológico já foi estudado em outras culturas sob estresse salino, inclusive da mesma família do milho, como a cana-de-açúcar e o sorgo. Avaliando a fluorescência da clorofila *a* aos 142 e 178 dias, após a brotação de duas cultivares de cana-de-açúcar cultivadas sob salinidade até a condutividade de 4.6 dS m<sup>-1</sup>, Andrade *et al.* (2015) constataram que não ocorreu efeito dos sais sob os parâmetros de fluorescência estudados (Fo, Fm, Fv e Fv/Fm), algo também verificado por Filho (2013).

Em estudos com sorgo sacarino, Monteiro *et al.* (2018) concluíram que os elevados níveis de sais afetaram a atividade fotoquímica dessas plantas, provocando aumento de Fo e redução de Fm e Fv. Além disso, verificaram que ocorreram danos ao aparato fotossintético, visto que, em todas as salinidades estudadas, os valores de Fv/Fm foram abaixo de 0.75. Por outro lado, avaliando outras duas cultivares de sorgo submetidas a salinidades elevadas, variando de 5.2 a 23.1 dS m<sup>-1</sup>, Nabati *et al.* (2013) não obtiveram significância dos sais sob as variáveis de fluorescência da clorofila *a*, embora todos os parâmetros (Fo, Fm, Fv e Fv/Fm) tenham apresentado acréscimo com o aumento da salinidade.

Na cultura do feijão, Oliveira *et al.* (2018) observaram que a salinidade ocasionou decréscimo de Fv e Fv/Fm, constatando possíveis alterações na atividade fotoquímica da

fotossíntese. Estudando outra leguminosa, Correia *et al.* (2009) já não observaram efeito dos níveis salinos sobre os parâmetros da fluorescência da clorofila *a* na cultura do amendoim.

### 5.3.2. Índice SPAD e Pigmentos fotossintéticos

O fator interação (S x A) foi significativo ( $p < 5\%$ ) para o índice SPAD e todas as variáveis de pigmentos fotossintéticos, ou seja, clorofila *a* (Cla), clorofila *b* (Clb), clorofila total (CT) e carotenoides (Tabela 9). Apenas na variável Cla ocorreu significância estatística dos níveis de sais, enquanto que as doses de *Azospirillum brasilense* não acarretaram efeito ( $p < 5\%$ ) sobre os parâmetros analisados.

**Tabela 9 - Resumo da Análise de Variância referente ao índice SPAD e pigmentos fotossintéticos das folhas de milho, submetidas a doses de *Azospirillum brasilense* associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).**

Fontes de Variação	GL	ANOVA – Índice SPAD e Pigmentos				
		SPAD	Cla	Clb	CT	Carot.
Salinidade (S)	4	0.5003 <sup>ns</sup>	0.0173*	0.4606 <sup>ns</sup>	0.1073 <sup>ns</sup>	0.4078 <sup>ns</sup>
<i>Azospirillum</i> (A)	2	0.0563 <sup>ns</sup>	0.3748 <sup>ns</sup>	0.5916 <sup>ns</sup>	0.6531 <sup>ns</sup>	0.6803 <sup>ns</sup>
S x A	8	0.0001*	0.0000*	0.0011*	0.0001*	0.0370*
Bloco	3	0.6532 <sup>ns</sup>	0.0261*	0.0460*	0.0205*	0.0755 <sup>ns</sup>
CV (%)		7.09	13.28	18.05	12.92	11.30

CV – coeficiente de variação; ns – não significativo; \* - significativo a 5% de probabilidade.

Analisando primeiramente o teor relativo de clorofila (SPAD) avaliado no estádio Vt (Figura 7) percebe-se que, em cada nível de condutividade elétrica da água avaliada, ocorreu aumentos quadráticos de 8.54%, 12.28%, 15.23%, 14.62% e 11.02% do índice SPAD até a dose de *A. brasilense* de 0.32 mL. A partir desta, houve redução do teor relativo de clorofila, ocorrendo decréscimo nas CEa de 1.7 e 2.3 dS m<sup>-1</sup>. Diante disto, sugere-se que a aplicação do inoculante foi eficaz até a inoculação de 0,32 mL, provavelmente devido ao aumento das raízes (Figura 4) e, por consequência, maior absorção de nutrientes, entre eles, o nitrogênio.

Xiong *et al.* (2015) afirmam que o índice SPAD pode apresentar uma alta correlação entre clorofila e nitrogênio foliar. Além disso, Okon e Vanderleyden (1997) constatam que a aplicação de *Azospirillum* está além da fixação de N atmosférico, isto é, ainda favorece o aumento da superfície de absorção das raízes, aumentando também a exploração do nitrogênio presente no solo.

A utilização do índice SPAD ainda está intimamente ligada ao diagnóstico da integridade do processo de fotossíntese das plantas, ou seja, a possíveis alterações no conteúdo de clorofila, além de ser um indicador de tolerância das plantas a processos abióticos, como seca e salinidade (SOUZA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2012), o que pode justificar o decréscimo acentuado do teor de clorofila nos níveis de salinidade de 1.7 e 2,3 dS m<sup>-1</sup> (Figura 7), ou seja, evidencia que as plantas de milho podem ser tolerantes até a salinidade da água de 1.1 dS m<sup>-1</sup> (AYERS; WESTCOT, 1999).

Na literatura, estudos relacionados ao índice SPAD em milho inoculado ainda são poucos e controversos. Jordão *et al.* (2010), estudando o teor relativo de clorofila em milho inoculado com *Azospirillum brasilense*, verificaram aumento do índice SPAD nas plantas submetidas à inoculação em comparação às testemunhas, corroborando com os resultados obtidos por Quadros *et al.* (2014), visto que, avaliando o teor relativo de clorofila de três cultivares de milho, ao longo de diferentes estádios vegetativos e reprodutivos, constataram que, embora o índice tenha reduzido ao longo dos estádios, sempre se manteve maior nos tratamentos com inoculação de *A. brasilense* em comparação aos sem inoculação. Por outro lado, Basi (2013) observou que a inoculação de *A. brasilense* não exerceu efeito significativo sob o teor relativo de clorofila das folhas de milho.

Quanto ao estudo do índice SPAD em milho submetido à salinidade, pouco se sabe. No entanto, este índice é avaliado de forma recorrente para análise do efeito salino em diversas plantas (GRACIANO *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2018; ANDRADE, 2019), embora seus resultados dependam do nível de tolerância de cada cultivar, ou seja, plantas sensíveis a níveis elevados de salinidade reduzem o índice SPAD e as tolerantes aumentam (JAMIL *et al.*, 2007).

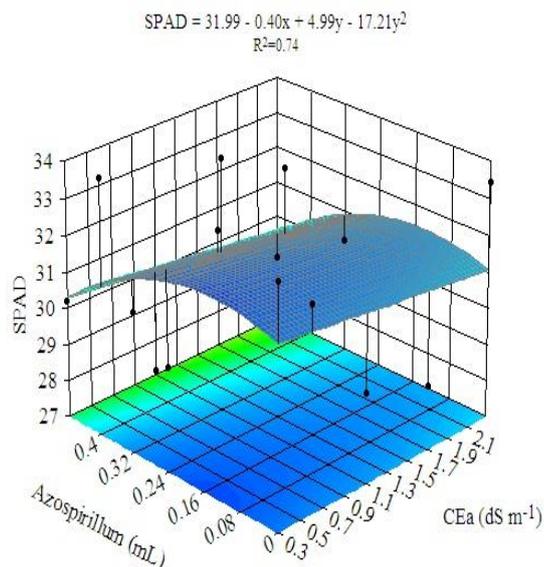


Figura 7 - Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre o índice SPAD das folhas do milho.

Na fase vegetativa do pendoamento (Vt), os teores de clorofila *a* (Cla) e total (CT) tiveram um acréscimo quadrático praticamente idênticos, de acordo com o aumento das doses de *Azospirillum* (A), quando se analisa o desdobramento de A em cada CEa (Figura 8A e 8C). Além disso, observa-se que quanto maior o nível de salinidade, maior o incremento de Cla e CT para todas as doses do inoculante (0.0; 0.32 e 0.48 mL). Na interação S x A, analisando a variável clorofila *b* (Clb), verifica-se que embora haja um acréscimo de Clb em cada nível salino, à medida que se aumentam as doses de *Azospirillum brasilense*, ocorre uma queda do seu teor entre as salinidades de 0.3 e 1.1 dS m<sup>-1</sup>, tendo um aumento nas mais elevadas (1.7 e 2.3 dS m<sup>-1</sup>), observando-se uma tendência quadrática decrescente (Figura 8B).

O aumento dos teores de clorofila *a*, *b* e total, tanto em razão das altas concentrações de CEa quanto das doses crescentes do inoculante bacteriano, pode evidenciar duas suposições. Ou as plantas de milho seriam tolerantes ao estresse salino estudado, visto que mantiveram o processo de absorção de luz quando submetidas aos maiores sais, ou as doses bacterianas serviram de mitigadoras do efeito da salinidade sobre o desempenho destes pigmentos fotossintéticos.

As clorofilas são importantíssimas no processo de fotossíntese das plantas, pois sua função principal é a captação de luz solar, favorecendo o desempenho fotoquímico do fotossistema II (FSII) (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Segundo Moreira *et al.* (2018), embora outros pigmentos estejam presentes nas folhas, como clorofila *b* e *c*, elas não suprem a importância da clorofila *a*, pois este teor

corresponde a pelo menos 75% de toda clorofila, tornando-se a que mais consegue absorver energia luminosa necessária para o processo fotossintético das culturas.

Na cultura do milho, pesquisas relacionadas à avaliação de pigmentos do complexo antena em virtude do estresse salino não são encontradas na literatura. Entretanto, sendo bastante comuns em várias plantas, variando entre genótipos da mesma espécie e entre espécies. Lima *et al.* (2004), verificando o efeito do estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina, em folhas de três variedades de arroz, constataram que os resultados médios dos teores de clorofilas variaram entre os genótipos, sugerindo que os que obtiveram aumento de clorofila, em razão das concentrações crescentes de salinidade da água de irrigação, seriam mais tolerantes, enquanto os que apresentaram decréscimo seriam sensíveis. Silva *et al.* (2017) também observaram acréscimo de clorofila em folhas de moringa cultivadas em meio salino, contudo, em coqueiro (SILVA *et al.*, 2016) e pimenta (LÓPEZ-AGUILAR *et al.*, 2012; MELO *et al.*, 2017) houve redução dos teores de clorofila.

Ao contrário do que observado acima, teores de clorofila e carotenoides são avaliados de maneira recorrente em milho inoculado com *Azospirillum brasilense*, e os resultados médios são, em geral, positivos, isto é, ocorre aumento destes teores em função da aplicação bacteriana. Hungria (2011), objetivando avaliar a inoculação de *Azospirillum brasilense* em milho, a fim de analisar o rendimento desta cultura, encontrou resultados favoráveis em seus estudos, principalmente, em relação ao incremento de pigmentos fotossintéticos nas folhas, tais como clorofila *a*, *b* e total, algo também constatado por Bashan *et al.* (2006) e Barassi *et al.* (2008).

Schaefer (2016) conseguiu resultados expressivos de teores de clorofila quando plantas de milho foram submetidas à inoculação de *A. brasilense* em déficit hídrico, constatando que ocorreu interação entre uso do inoculante e o teor de umidade do solo, o que resultou em acréscimo dos teores *a*, *b* e total nas plantas inoculadas, em comparação com o controle.

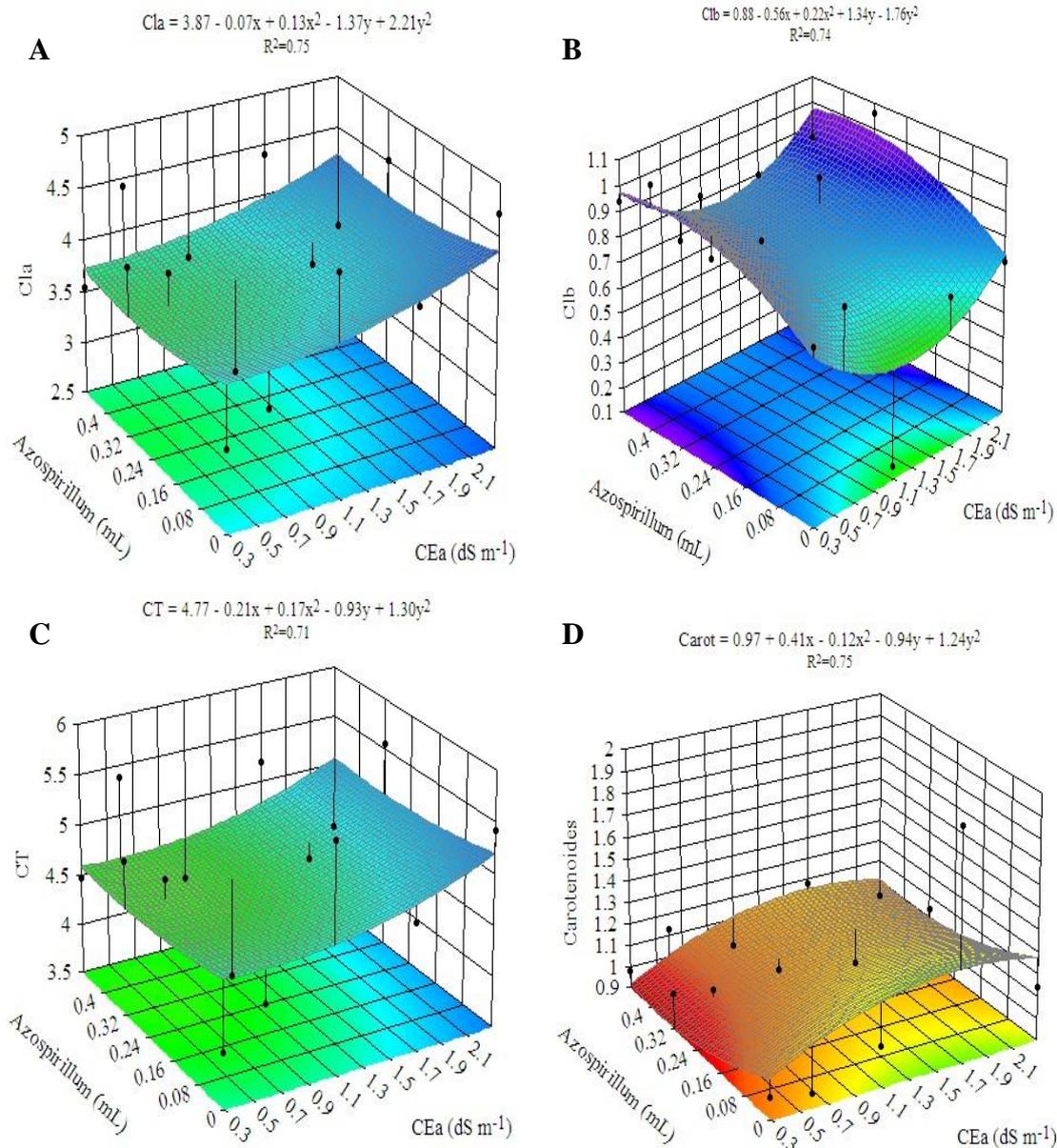


Figura 8 - Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre os pigmentos fotossintéticos das folhas do milho.

Analisando-se a interação das doses de *Azospirillum*, associadas aos níveis de salinidade para o pigmento fotossintético carotenoide (Figura 8D), constata-se que as bactérias não causaram efeito positivo nesta variável, quando observadas dentro de cada CEa (0.3; 0.6; 1.1; 1.7; 2.3 dS m<sup>-1</sup>), pois ocorreu decréscimo do teor de carotenoides, em função do aumento das doses do inoculante (0.0; 0.32; 0.48 mL).

Além disso, nota-se que o incremento deste pigmento fotossintético se evidencia nos níveis de salinidade mais elevados, tendência similar ao das clorofilas, principalmente, na salinidade 1.7 dS m<sup>-1</sup>, em associação com a dose de controle (sem inoculação). De acordo com Lima *et al.* (2004), a função dos carotenoides é absorver

energia e transferir energia radiante, além de proteger as clorofilas quanto à foto-oxidação, sendo considerado um pigmento acessório. Com isso, essa tendência similar das clorofilas *a* e *b* pode justificar a não degradação das mesmas nas concentrações elevadas de salinidade.

Taiz e Zeiger (2013) afirmam que os carotenoides são pigmentos acessórios que absorvem radiação visível (400 – 700 nm), filtrando a radiação ultravioleta (200 - 400 nm), acarretando assim a redução de danos celulares devido à alta incidência de luz solar. Além disso, exercem função fotoprotetora através da rápida inibição dos estados excitados da clorofila, protegendo, desta forma, as células da foto-oxidação.

Assim como os teores de clorofila, Lima *et al.* (2004) também obtiveram aumento das concentrações de carotenoides nas folhas de arroz irrigadas com águas salinas, bem como Silva *et al.* (2017), que em moringa encontraram aumento de 63% do teor de carotenoides nas plantas submetidas à salinidade de 80 mM, corroborando com a tendência encontrada por eles para o índice verde (clorofila).

### 5.3.3. Trocas gasosas

Conforme tabela 10, os fatores isolados (S e A) exerceram significância de 5% de probabilidade sobre a condutância estomática (gs) e transpiração (E). Além disso, a salinidade ainda afetou significativamente a variável de fotossíntese líquida (A). Quanto à associação Salinidade (S) e *Azospirillum* (A), ocorreu efeito de interação ( $p < 5\%$ ) para gs, E e Ci (concentração interna de CO<sub>2</sub>).

**Tabela 10 - Resumo da Análise de Variância referente às trocas gasosas das folhas de milho, submetidas a doses de *Azospirillum brasilense* associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).**

Fontes de Variação	GL	ANAVA – Trocas gasosas			
		Gs mol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	E mmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	A μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	Ci μmol mol <sup>-1</sup>
Salinidade (S)	4	0.0304*	0.0040*	0.0019*	0.2711 <sup>ns</sup>
<i>Azospirillum</i> (A)	2	0.0263*	0.0001*	0.5989 <sup>ns</sup>	0.2958 <sup>ns</sup>
S x A	8	0.0000*	0.0000*	0.1802 <sup>ns</sup>	0.0208*
Bloco	3	0.0310*	0.0676 <sup>ns</sup>	0.4612 <sup>ns</sup>	0.0001*
CV (%)		13.31	9.88	8.88	52.23

CV – coeficiente de variação; ns – não significativo; \* - significativo a 5% de probabilidade.

A figura 9 mostra a análise de condutância estomática (gs), em virtude da interação dos níveis de condutividade elétrica da água (CEa) com as doses do inoculante bacteriano (*Azospirillum*). Desta forma, percebe-se que a dose de 0.32 mL de *A. brasilense* desempenhou aumento na abertura estomática, em todas as salinidades

estudadas (0.3; 0.6; 1.1; 1.7; 2.3 dS m<sup>-1</sup>), ocorrendo decréscimo na dose de 0.48 mL, principalmente, nas concentrações salinas a partir de 1.1 dS m<sup>-1</sup>. Apesar desta redução, o volume de 0.48 mL de *Azospirillum brasilense* aplicado nas sementes ainda tornou os resultados médios de gs maiores que os valores obtidos para a testemunha (sem inoculação). Com isso, pode-se evidenciar que a utilização das bactérias promotoras de crescimento do sistema radicular minimizou o efeito danoso do estresse salino na absorção de água, mantendo ativo o processo de abertura dos estômatos.

Segundo Flexas *et al.* (2006), resultados médios de gs entre 0.05 e 0.10 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> limitam a fotossíntese, em virtude da redução de absorção de CO<sub>2</sub>, causando estresse nas plantas. Contudo, os valores médios obtidos nesta pesquisa e apresentados na figura abaixo demonstram o contrário, pois variaram entre 0.19 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, observado na associação 0.0 mL (*Azospirillum*) versus 0.3 dS m<sup>-1</sup> (CEa), e 0.12 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, verificado em 0.48 mL com 2.3 dS m<sup>-1</sup>.

A condutância estomática é uma variável que está intimamente ligada ao desempenho de outras variáveis, visto que sua inibição ou redução afeta de forma direta os processos de fotossíntese e transpiração. Para Amorim *et al.* (2010), a salinidade causa efeito deletério sobre a condutância estomática, provocando redução da fotossíntese líquida, declínio da concentração interna de CO<sub>2</sub> e baixa na taxa de transpiração. Contudo, Barassi *et al.* (2008) salientam em seus estudos que a inoculação de *Azospirillum* desempenha aumento em diversas variáveis analisadas, incluindo fotossíntese, teor de clorofila e condutância estomática.

Sousa *et al.* (2016), avaliando a interação entre o estresse salino e biofertilizante de caranguejo na cultura do milho, salientaram que os níveis crescentes de salinidade inibiram a variável gs na ausência do biofertilizante, ou seja, somente com a irrigação da água salina. Já Nonato (2016) obteve resultados satisfatórios para condutância estomática em soja inoculada com *Azospirillum brasilense*, com valores variando 0.32 e 0.47 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

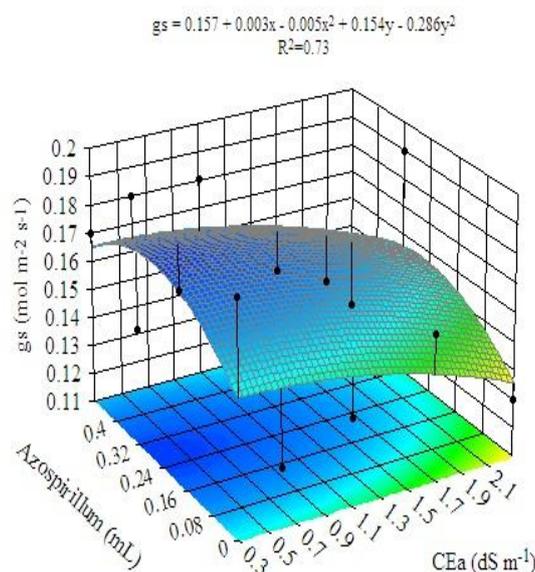


Figura 9 - Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a condutância estomática ( $g_s$ ) das folhas do milho.

Quanto à interação sobre a transpiração ( $E$ ) (Figura 10), é importante destacar o aumento da taxa transpiratória das plantas devido às doses inoculantes de 0.32 e 0.48 mL de *Azospirillum*, avaliado dentro de cada nível de salinidade, principalmente, nas concentrações iniciais (0.3 e 0.6  $dS\ m^{-1}$ ). Os resultados obtidos podem ser justificados pelo aumento da condutância estomática (Figura 9), que favorece o processo de transpiração das plantas, isto é, quanto maior a abertura estomática, maior a transpiração. Isso também pode se dever ao incremento das raízes, em virtude da aplicação das bactérias de *Azospirillum brasilense*, que tem como uma das funções promover o crescimento radicular através da produção das auxinas, ampliando a superfície de absorção de água e nutrientes e, conseqüentemente, mantendo o processo de transpiração ativo. Para Taiz e Zeiger (2009), quando a redução de disponibilidade de água é percebida pelas raízes, ocorre um aumento da síntese de ácido abscísico (ABA), que passa a ser translocado para as folhas e assim estimula o fechamento estomático e, posteriormente, afeta o processo de transpiração.

Quando submetida à luminosidade e água disponível, a planta tende a aumentar sua transpiração, refletindo na manutenção da diferença adequada de potencial de água entre a planta e o solo, facilitando a absorção de água, mantendo o fluxo constante dos vasos condutores, além de turgidez das células e absorção de nutrientes (CORREIA, 2017). Tudo isso devido ao processo de abertura estomática, que além de preservar a transpiração, ajuda na entrada de  $CO_2$ , importante para manter a fase bioquímica da fotossíntese em funcionamento (BULEGON *et al.*, 2016).

Embora, em geral, o efeito da salinidade seja danoso às trocas gasosas (GOMES *et al.*, 2011; FILHO, *et al.*, 2014; MONTEIRO, 2016; SOUSA *et al.*, 2016), a inoculação com bactérias diazotróficas, entre elas, o *Azospirillum*, tem desempenhado bons resultados em relação a esses parâmetros. Correia (2017), em análise da resistência do milho inoculado ao glifosato, percebeu que as plantas inoculadas apresentaram aumento na taxa de fotossíntese (A), transpiração (E) e concentração interna de CO<sub>2</sub>, corroborando com Elanchezhian e Panwar (1997), Bashan *et al.* (2006), Nonato (2016) e Bulegon *et al.* (2019).

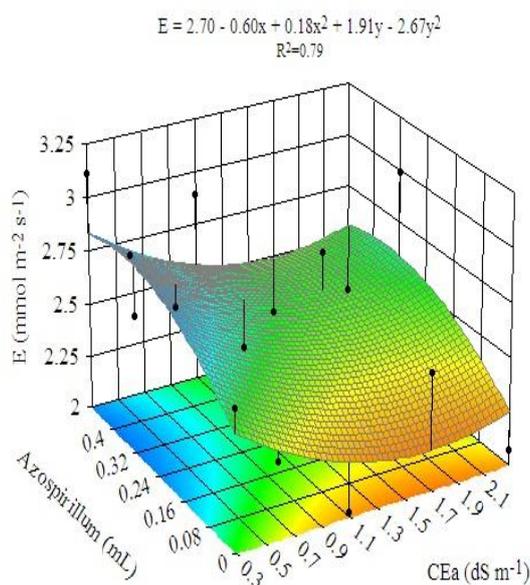


Figura 10 - Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a transpiração (E) das folhas do milho.

Os níveis crescentes de salinidade da água de irrigação exerceram decréscimo quadrático na fotossíntese líquida das plantas (A) (Figura 11). No entanto, esta redução foi pouco evidente, com variação de  $25.01 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ( $0.3 \text{ dS m}^{-1}$ ) a  $21.90 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ( $2.3 \text{ dS m}^{-1}$ ). Isto se deve, provavelmente, à manutenção da absorção de energia luminosa através dos pigmentos fotossintéticos e o desempenho de proteção das clorofilas por meio dos carotenoides. Denotando que o aparato fotossintético não foi efetivamente prejudicado, o que pode se justificar através dos resultados obtidos nesta pesquisa referentes à fluorescência da clorofila *a*, índice SPAD e pigmentos fotossintéticos.

O que também pode, nesta pesquisa, justificar a mínima redução da taxa de fotossíntese, em virtude do aumento da salinidade, são os resultados médios aqui obtidos para condutância estomática (*g<sub>s</sub>*) (Figura 9), os quais foram satisfatórios, havendo incremento de *g<sub>s</sub>*, em todas as concentrações salinas, em razão da aplicação de *Azospirillum brasilense*. Taiz e Zeiger (2013) salientam que em condições adversas,

dentre elas a salinidade, a fotossíntese e transpiração são afetadas diretamente pelo fechamento estomático induzido pelo acréscimo dos níveis de ácido abscísico ou devido à perda de solutos das células-guarda, que acarretam perda de água e redução da turgidez.

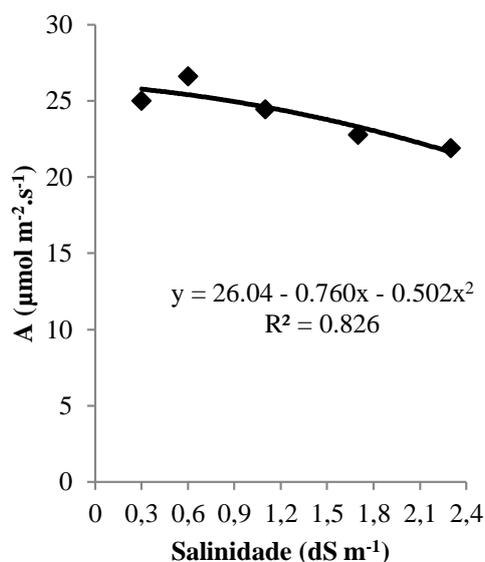


Figura 11 - Efeito dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a fotossíntese (A) das folhas de milho.

A concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) obteve acréscimo em razão da interação salinidade (S) versus *Azospirillum* (A) (Figura 12), ou seja, a inoculação exerceu aumento quadrático de Ci, em cada concentração de salinidade, sendo o incremento de CO<sub>2</sub> mais evidente na associação de 0,32 mL de A com 1,7 dS m<sup>-1</sup> de S.

Apesar da concentração interna de CO<sub>2</sub> ter sido maior nas plantas de milho inoculadas com a dose 0,32 mL, o volume de 0,48 mL de *Azospirillum* apresentou maior incremento de Ci, quando comparado com a testemunha (sem inoculação). Segundo Bunce (2014), plantas inoculadas com bactérias proporcionam 20% a mais de concentração interna de CO<sub>2</sub> e isso influencia no desempenho fotossintético dessas plantas, visto que maiores taxas de CO<sub>2</sub> acarretam maior atividade da enzima PEP carboxilase, que na via metabólica fotossintética das plantas C4 (milho), é a responsável por acelerar o processo de formação do CO<sub>2</sub> em ácido oxaloacético (TAIZ; ZEIGER, 2013).

De modo geral, é nítido observar o provável efeito de atenuação do inoculante bacteriano de *Azospirillum brasilense* perante à salinidade nas variáveis de trocas gasosas desta pesquisa. Em resumo, isto se deve à ligação entre todos esses parâmetros devido ao incremento da superfície de contato das raízes, que, provavelmente, aumentou a exploração de água e nutrientes no solo, favorecendo a translocação para células,

mantendo-as túrgidas e, por consequência, vindo a promover abertura estomática, transpiração, absorção de luz e CO<sub>2</sub> e, por fim, baixa redução da taxa de fotossíntese líquida.

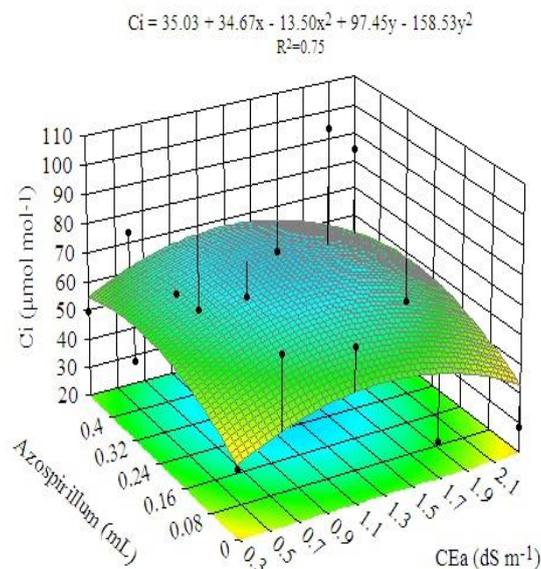


Figura 12 - Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) nas folhas do milho.

Observa-se, através da tabela 11, que o fator salinidade exerceu significância estatística ( $p < 5\%$ ) sobre as variáveis de eficiência instantânea de uso de água (EiUA) e carboxilação (EiC), ao contrário do fator *Azospirillum*. A associação entre esses dois fatores (S x A) exerceu efeito significativo para os dois parâmetros.

**Tabela 11 - Resumo da Análise de Variância referente à eficiência instantânea de uso da água (EiUA) e eficiência instantânea de carboxilação (EiC) das folhas de milho, submetidas a doses de *Azospirillum brasilense* associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).**

Fontes de Variação	GL	ANAVA – Eficiência do uso de água e carboxilação	
		EiUA	EiC
Salinidade (S)	4	0.0045*	0.0011*
<i>Azospirillum</i> (A)	2	0.0675 <sup>ns</sup>	0.1487 <sup>ns</sup>
S x A	8	0.0000*	0.0005*
Bloco	3	0.0025*	0.0148*
CV (%)		9.66	52.61

CV – coeficiente de variação; ns – não significativo; \* - significativo a 5% de probabilidade.

A eficiência instantânea de uso da água (EiUA), advinda da relação entre a taxa de fotossíntese líquida (A) e transpiração (E), apresentou pequeno decréscimo à medida que se aumentou as doses de *Azospirillum brasilense* em cada nível de salinidade (Figura 13). Contudo, observa-se que, mesmo com essa tendência, as plantas submetidas aos

tratamentos com maiores níveis de salinidade (1.1; 1.7 e 2.3 dS m<sup>-1</sup>) ainda obtiveram tendência superior de EiUA. Além disso, percebe-se que a maior eficiência de uso da água (12.03) foi na associação entre a testemunha de *Azospirillum brasilense* com a maior concentração de salinidade (2.3 dS m<sup>-1</sup>).

Segundo Coêlho e Oliva (1981), a elevação de EiUA se baseia em uma maior taxa de fotossíntese associada a uma menor taxa de transpiração, o que para eles evidencia que esta elevação sugere um comportamento conservador, enquanto uma situação oposta indica comportamento consumidor. Diante disto, supõe-se que os resultados médios de EiUA obtidos nesta pesquisa demonstram que as plantas de milho submetidas aos níveis mais elevados de salinidade apresentaram um comportamento conservador, o que pode evidenciar uma adaptação aos efeitos salinos. Ou seja, mantiveram o controle transpiratório a fim de evitar perdas de água.

Ferraz *et al.* (2012) salientam que a maior absorção de CO<sub>2</sub> do meio externo promove maior transpiração e, por conseguinte, maior perda de água. Enquanto que a menor assimilação de CO<sub>2</sub> atmosférico se dá em razão da baixa transpiração, diminuindo a perda de água, que, de forma geral, baseiam-se no controle de abertura dos estômatos.

Com isso, a utilização da eficiência instantânea de uso da água (A/E) tem que ser avaliada como a quantidade de carbono que a planta fixa, por cada unidade de água que perde (JAIMEZ *et al.*, 2005). Desta forma, sugere-se que, mesmo ocorrendo o controle do processo transpiratório pelas plantas, através da abertura estomática, as que foram submetidas aos níveis mais elevados mantiveram uma maior fixação de CO<sub>2</sub>, denotando, possivelmente, um mecanismo de tolerância. Para Silva *et al.* (2014), maior EiUA das plantas indica maior tolerância à salinidade.

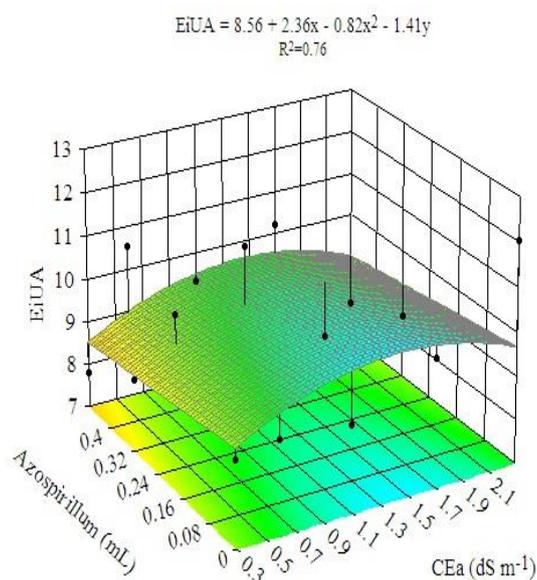


Figura 13 - Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a eficiência instantânea de uso da água (EiUA) das folhas do milho.

A razão fotossíntese líquida (A) e concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) define a variável de eficiência instantânea de carboxilação (EiC), que, de acordo com a figura abaixo, também demonstrou uma leve tendência linear decrescente para as doses de *Azospirillum*. Porém, uma tendência quadrática decrescente para os níveis de condutividade elétrica da água. Diante deste ajuste de regressão, percebe-se que o aumento das doses do inoculante pouco influenciou na variável EiC, diferentemente, dos níveis de condutividade elétrica da água de irrigação (CEa), visto que apresentaram tendência superior nas salinidades a partir de 1.1 dS m<sup>-1</sup>.

Para Silva *et al.* (2015) reduções em eficiência instantânea de carboxilação (EiC) sugerem decréscimos no processo fotossintético, havendo redução na disponibilidade de ATP e NADPH, bem como assimilação de CO<sub>2</sub>, substrato para Rubisco. Diante disso, essas afirmações justificam positivamente os resultados obtidos neste estudo, pois, embora as doses bacterianas não tenham influenciado no aumento de EiC, os maiores valores desta variável foram encontrados nas elevadas concentrações de CEa, denotando desta forma, que o estresse salino aplicado não afetou de maneira efetiva o processo de fotossíntese.

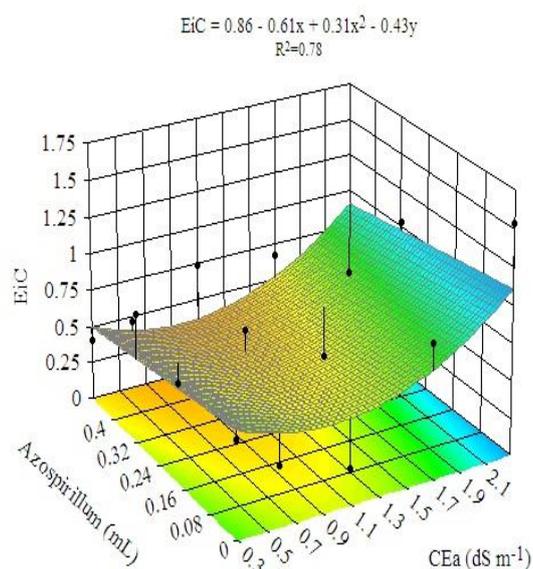


Figura 14 - Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a eficiência instantânea de carboxilação (EiC) das folhas do milho.

Embora as plantas C4 consigam manter taxas elevadas de CO<sub>2</sub>, mesmo com os estômatos fechados, com desempenho melhor que as C3 (CHICONATO, 2016), são negativos, em geral, os resultados de pesquisas relacionadas à eficiência do uso da água e carboxilação de plantas cultivadas em ambientes abióticos, não corroborando com os encontrados neste estudo.

Estudando o crescimento, fisiologia e produção do milho doce sob estresse hídrico, Brito *et al.* (2013) encontraram valores decrescentes de eficiência instantânea de carboxilação (EiC), à medida que aumentaram os déficits hídricos. Algo também verificado por Monteiro (2016), que apesar de avaliar outra cultura C4 (sorgo) e em outro estresse abiótico (salinidade), obteve resultados desfavoráveis para EiC, bem como declínio na eficiência instantânea de uso da água (EiUA).

#### 5.3.4. Teor relativo de água nas folhas e extravasamento de eletrólitos

O parâmetro de teor relativo de água nas folhas (TRA) sofreu efeito significativo ( $p < 5\%$ ) dos três fatores de variação analisados (salinidade, *Azospirillum* e interação), enquanto que para a variável extravasamento de eletrólitos (EE), apenas o fator isolado *Azospirillum* não exerceu significância estatística sobre tal (Tabela 12).

**Tabela 12 - Resumo da Análise de Variância referente ao teor relativo de água (TRA) e extravasamento de eletrólitos (EE) das folhas de milho, submetidas a doses de *Azospirillum brasilense* associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).**

Fontes de Variação	GL	ANAVA – Teor relativo de água e extravasamento de eletrólitos	
		TRA	EE
		---%---	---%---
Salinidade (S)	4	0.0051*	0.0000*
<i>Azospirillum</i> (A)	2	0.0004*	0.5539 <sup>ns</sup>
S x A	8	0.0339*	0.0142*
Bloco	3	0.8198 <sup>ns</sup>	0.1307 <sup>ns</sup>
CV (%)		11.87	9.76

CV – coeficiente de variação; ns – não significativo; \* - significativo a 5% de probabilidade.

A interação *Azospirillum* versus condutividade elétrica da água (CEa) apresentada na figura 15A demonstra que houve redução do teor relativo de água nas folhas (TRA), com o aumento das doses inoculantes inseridas em cada condutividade (CEa), sendo mais acentuada nas associações com maiores doses de *Azospirillum* (0.32 e 0.48 mL) e concentrações de salinidade (1.7 e 2.3 dS m<sup>-1</sup>).

Embora tenha sido observada uma queda na hidratação celular (TRA), não se pode determinar que a causa foi devido às doses bacterianas, visto que no presente estudo houve incremento de raízes, em decorrência da sua utilização, além de boa condutância estomática e transpiração.

Com isso, supõe-se que o fator causador foi a salinidade, visto que o estresse salino reduz a disponibilidade de água livre para a planta através da elevação do potencial osmótico do solo, impondo à cultura maior desprendimento de energia para que consiga extrair água do solo, para desta forma, tentar manter a turgescência celular e, por consequência, não afetar o seu crescimento (SOUSA *et al.* (2017). O que não ocorreu neste estudo, pois, justamente nas maiores concentrações de salinidade (1.7 e 2.3 dS m<sup>-1</sup>) as plantas de milho sofreram reduções significativas em seu crescimento. Tais resultados de TRA também podem comprovar o efeito deletério sobre as variáveis de AP e AF nesta pesquisa.

O teor de água nas folhas de plantas submetidas a estresse salino também pode ter relação direta com o potencial hídrico celular (CARDOSO, 2000), visto que para ocorrer hidratação nas células, isto é, pressão de turgescência, é necessário que haja um equilíbrio dinâmico entre o potencial de turgescência e o osmótico (AZAIZEH *et al.* 1992), evidenciando, que neste estudo, as plantas não se ajustaram osmoticamente, mecanismo de tolerância à salinidade comum em plantas CAM.

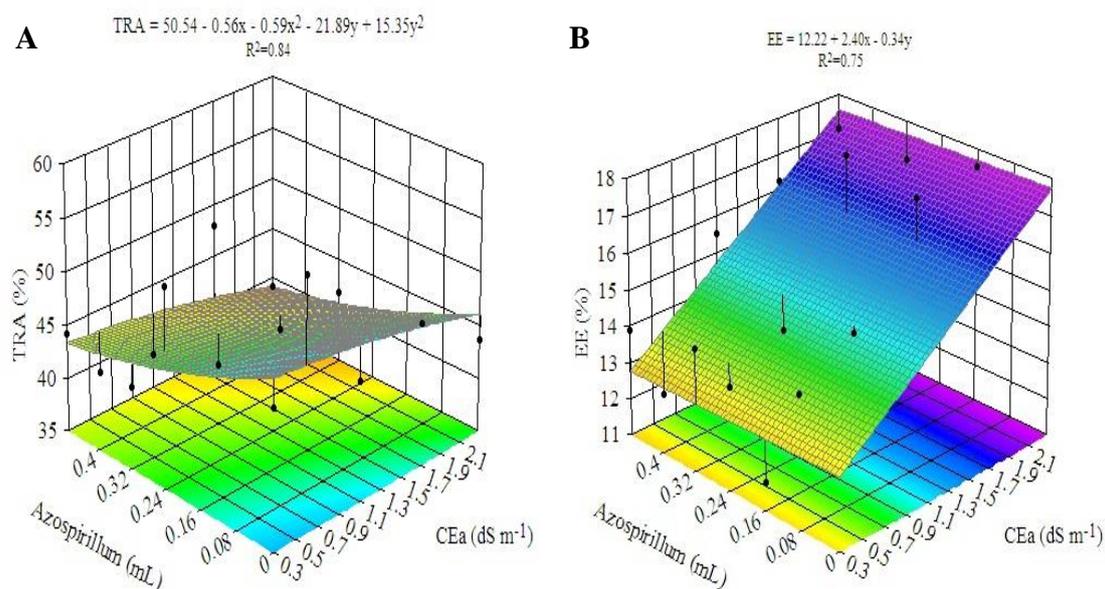


Figura 15 - Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre o teor relativo de água (TRA) e extravasamento de eletrólitos (EE) das folhas do milho.

Quanto à variável extravasamento de eletrólitos (EE), a ligação inoculante versus salinidade demonstrou que as doses de *Azospirillum* praticamente não influenciaram no aumento de EE, em análise individual das condutividades (CEa), apresentando um ajuste de regressão linear quase constante. Contudo, esta variável foi influenciada de modo efetivo pelas concentrações de salinidade, obtendo incremento linear crescente, com o aumento das condutividades elétricas da água de irrigação (Figura 15B). Denotando provavelmente que o excesso de íons eletricamente carregados advindos da água de irrigação ( $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$  e  $Ca^{2+}$ ) possam ter provocado um estresse oxidativo no interior das células.

O extravasamento de eletrólitos é um indicador de danos na membrana plasmática celular (ESPASANDIN *et al.* 2018), ou seja, pode causar ruptura da membrana através do estresse oxidativo, levando à peroxidação lipídica, ao descontrole da permeabilidade seletiva da membrana e até a morte celular (BRITO *et al.*, 2011). Quanto maior o vazamento eletrolítico, maior o dano na membrana plasmática (CRUZ *et al.*, 2019).

A salinidade pode desencadear diversos fatores, entre eles, o estresse oxidativo, que pode ser explicado pelo aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs), como o radical superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e a radical hidroxila (OH). Essas espécies são extremamente prejudiciais, visto que promovem o aparecimento de lesões nas plantas, bem como uma intensa oxidação das proteínas, acarretando sua desnaturação e oxidação dos lipídeos, através da peroxidação, que facilita a perda da integridade da membrana celular. (PANDA, 2009; MOURATO *et al.*, 2012; SOUZA, 2018).

Cruz *et al.* (2019), estudando os parâmetros de crescimento e respostas estomáticas do milho de pipoca submetida ao estresse salino, obtiveram resultados semelhantes aos encontrados nesta pesquisa, em que houve declínio do teor relativo de água nas folhas e aumento de vazamento eletrolítico, em razão do incremento dos níveis salinos, corroborando também com Sousa *et al.* (2017) e Bezerra (2018). Embora pesquisando citros e goiabeira, respectivamente, os autores também observaram as mesmas tendências, em virtude das altas concentrações de sais na água de irrigação.

#### 5.4. Produção

As concentrações crescentes de salinidade exerceram efeito significativo ( $p < 5\%$ ) sobre a maioria das variáveis de produção, exceto no comprimento (CE) e diâmetro da espiga (DE). As doses de *Azospirillum* influenciaram estatisticamente apenas na massa seca total da espiga (MSTE) e no índice de colheita (IC). A associação entre esses dois fatores de variação (S x A) foi significativa ( $p < 5\%$ ) sobre os parâmetros de comprimento e massa seca total da espiga (Tabela 13).

**Tabela 13 - Resumo da Análise de Variância referente aos parâmetros de produção do milho, submetida a doses de *Azospirillum brasilense* associadas a diferentes níveis de condutividade elétrica da água (CEa).**

Fontes de Variação	GL	ANAVA – Produção					
		MSTE ---g---	NGE -----	MSGE ---g---	CE ---cm---	DE ---mm---	IC -----
Salinidade (S)	4	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000 <sup>ns</sup>	0.2163 <sup>ns</sup>	0.0000*
<i>Azospirillum</i> (A)	2	0.0232*	0.8939 <sup>ns</sup>	0.8953 <sup>ns</sup>	0.0005 <sup>ns</sup>	0.4969 <sup>ns</sup>	0.0120*
S x A	8	0.0016*	0.4519 <sup>ns</sup>	0.5404 <sup>ns</sup>	0.0000*	0.1673 <sup>ns</sup>	0.5134 <sup>ns</sup>
Bloco	3	0.8994 <sup>ns</sup>	0.3172 <sup>ns</sup>	0.5221 <sup>ns</sup>	0.9686*	0.0010*	0.1523 <sup>ns</sup>
CV (%)		12.13	20.07	15.51	10.61	9.48	18.06

CV – coeficiente de variação; ns – não significativo; \* - significativo a 5% de probabilidade.

Analisando o efeito significativo da interação sobre a massa seca total da espiga (MSTE), através da figura abaixo, observam-se pequenos aumentos quadráticos de MSTE, em função da inoculação em todas as condutividades avaliadas (0.3; 0.6; 1.1; 1.7; 2.3 dS m<sup>-1</sup>), havendo maior acréscimo na dose de 0.32 mL, com incrementos percentuais de 4.24%, 5.63%, 3.92%, 22.03% e 24.12% quando comparados com os valores médios dos tratamentos sem inoculação. Contudo, embora a dose de 0.48 mL tenha reduzido a massa seca da espiga em relação a 0.32 mL, ela permaneceu com maiores valores quando comparada com a testemunha (sem inoculação), com acréscimos de MSTE de 0.80%, 19.74%, 4.01%, 5.86% e 7.28%. Observando o efeito da salinidade, é nítido o decréscimo

acentuado de MSTE com o aumento da condutividade elétrica da água de irrigação, o que pode denotar efeito danoso sobre as demais variáveis analisadas, caracterizando redução da produção de grãos, em virtude do aumento da salinidade da água.

Como já mencionado anteriormente, pesquisas relacionadas à associação entre salinidade e inoculação bacteriana são inexistentes, havendo a necessidade de se obter explicações baseadas em estudos independentes sobre cada fator. Contudo, são poucos os trabalhos direcionados à produção do milho em meio salino, nos quais são mencionados suposições devido ao efeito da salinidade sobre o crescimento vegetativo e não por avaliações específicas de produção, como número de espigas, de grãos por espiga, massa da espiga, dentre outros. Por outro lado, as pesquisas realizadas com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho e também em outras plantas C4 já demonstram a análise efetiva das variáveis de produção.

Para Rockenbach *et al.* (2017), avaliando a eficiência da aplicação do *Azospirillum brasilense* associado ao nitrogênio na cultura do milho, observaram que, embora a aplicação do inoculante não tenha causado efeito significativo sobre massa seca da espiga, esta variável apresentou uma tendência de aumento, corroborando em parte com os resultados aqui obtidos. Já Martins *et al.* (2018), com o mesmo propósito de Rockenbach *et al.* (2017), contudo, em milho de pipoca, obtiveram efeito significativo positivo sobre a massa da espiga, com aumento de 33.25% em comparação ao controle (sem inoculação).

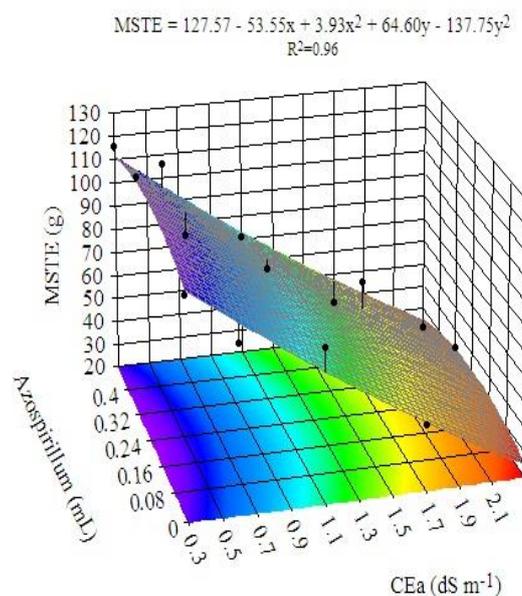


Figura 16 - Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre a massa seca total da espiga (MSTE) do milho.

Na figura 17, encontram-se os parâmetros de número de grãos por espiga (NGE) e massa seca dos grãos por espiga (MSGE), em função dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação. Diante disto, os valores médios de NGE se adequaram melhor ao ajuste de regressão quadrático (Figura 17A), obtendo valores próximos até a salinidade de  $1.1 \text{ dS m}^{-1}$ , entre 360 e 325 grãos, com decréscimo acentuado nas salinidades de  $1.7$  e  $2.3 \text{ dS m}^{-1}$ , com 172 e 105 grãos, respectivamente.

Já MSGE se adequou melhor ao ajuste linear (Figura 17B), obtendo também declínio significativo, em razão das concentrações crescentes de sais da água, com valores entre o controle ( $0.3 \text{ dS m}^{-1}$ ) e maior nível salino ( $2.3 \text{ dS m}^{-1}$ ) variando de 98 a 20 gramas, respectivamente. Estes danos à produção de grãos se devem, provavelmente, ao retardamento do crescimento e desenvolvimento vegetativo das plantas, em virtude da dificuldade de absorção de água em solos salinizados, proporcionando, desta forma, efeito negativo nos estádios reprodutivos do milho.

Em análise do desenvolvimento e produção do milho irrigado com águas de diferentes condutividades elétricas, Nazário *et al.* (2013) verificaram que a salinidade acarretou decréscimo linear do número médio e peso dos grãos por planta, na proporção de 64.5% e 65.7%, respectivamente. Além disso, atribuíram ao estresse osmótico, imposto durante o crescimento vegetativo, como o causador desse declínio, desencadeando problemas nos processos fisiológicos e, assim, afetando a produção.

Willadino *et al.* (1992) também obtiveram resultados negativos quanto à produção de grãos de oito variedades de milho associada à salinidade, corroborando também com os resultados aqui obtidos e com Katerji *et al.* (2004) e Blanco *et al.* (2008).

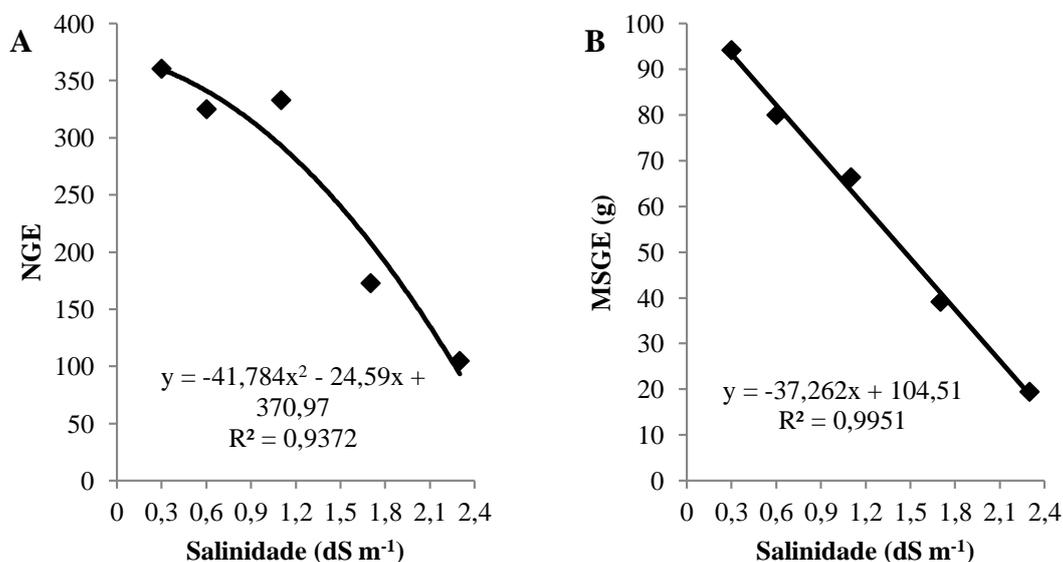


Figura 17 - Efeito dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre o número de grãos por espiga (NGE) e massa seca dos grãos por espiga (MSGE).

Conforme Figura 18, os dois fatores se adequaram a regressões quadráticas, demonstrando para o comprimento da espiga (CE), uma superfície de resposta mais elevada nos menores tratamentos de salinidade, ou seja, entre as associações de *Azospirillum* (0.0; 0.32 e 0.48 mL) com as condutividades (0.3; 0.6 e 1.1 dS m<sup>-1</sup>), e decréscimo acentuado a partir da CEa de 1.1 dS m<sup>-1</sup>, ocorrendo maior declínio do comprimento nos tratamentos de 2.3 dS m<sup>-1</sup> versus 0.48 mL e 1.7 dS m<sup>-1</sup> com 0.48 mL, com valores de 7.1 e 11.2 cm, respectivamente.

Estes resultados constataam, provavelmente, que as doses bacterianas pouco influenciaram ou influenciaram negativamente no comprimento da espiga, visto que, avaliando as doses dentro de cada CEa, a variável CE se manteve quase constante nas concentrações salinas iniciais e, nas CEa mais elevadas, houve redução do comprimento com o aumento das doses do inoculante, corroborando com Rockenbach *et al.* (2017) e Mumbach (2017) que não encontraram influência da inoculação com *Azospirillum brasilense* no comprimento da espiga de milho.

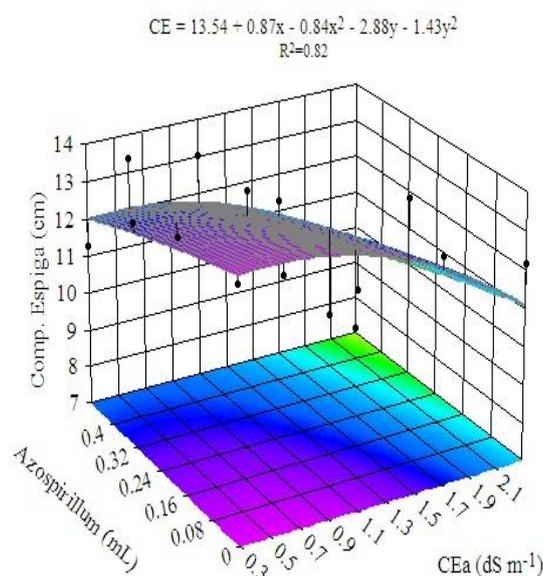


Figura 18 - Efeito das doses de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de salinidade da água de irrigação sobre o comprimento da espiga (CE) do milho.

Quanto ao índice de colheita (IC), as figuras abaixo demonstram esta variável em função do acréscimo dos níveis de sais da água (Figura 19A) e das doses crescentes de *Azospirillum brasilense* nas sementes (19B), com ajuste de regressão quadrático. A salinidade afetou negativamente o índice de colheita do milho, com decréscimo acentuado, variando do menor para o maior nível salino de 0.33 a 0.09. As doses do

inoculante não influenciaram positivamente em IC, apresentando valores idênticos entre a testemunha e a dose de 0.32 mL (0.25), e menores valores para a de 0.48 mL (0.21).

Este índice se torna importantíssimo para a análise geral da produção do milho, nas associações entre a salinidade e inoculação, pois, demonstra a relação entre o desenvolvimento reprodutivo e vegetativo da cultura, ou seja, peso seco dos grãos em razão do peso seco de toda a parte vegetativa da planta (raízes, colmo, folhas e pendão).

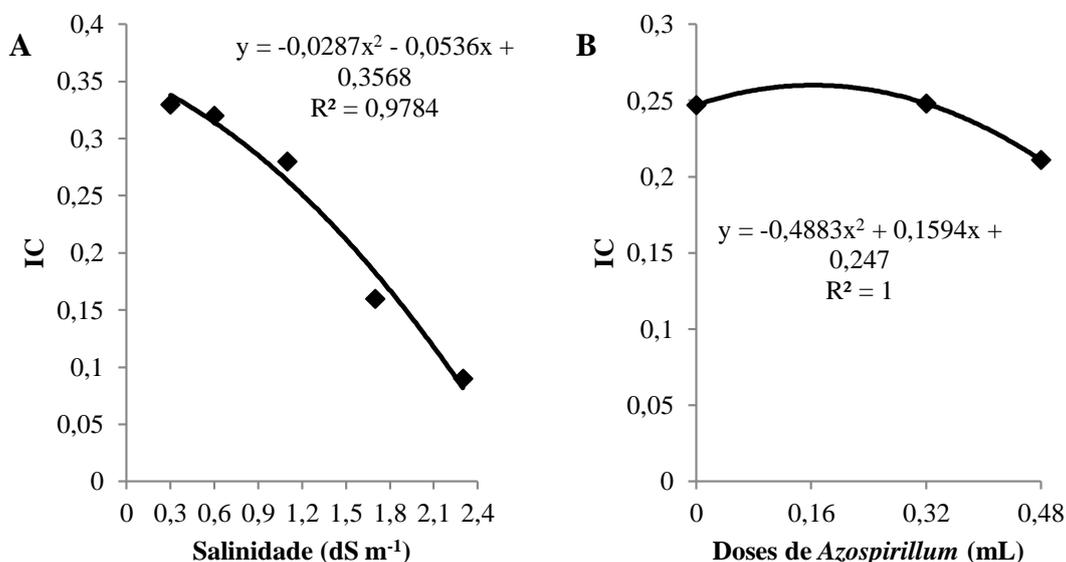


Figura 19 - Efeito dos níveis crescentes de salinidade da água de irrigação e doses de *Azospirillum brasilense* sobre o índice de colheita (IC) do milho.

O índice de colheita também é uma medida relacionada à eficiência do transporte de fotoassimilados para o grão, ou seja, conversão de produtos sintetizados em material de importância econômica (CASTRO *et al.*, 1987; PARANHOS *et al.*, 1991). De forma mais clara, diz respeito à quantidade de matéria que a planta produz e transforma em grão (SOARES *et al.*, 2006).

Diante disto, salienta-se que, neste estudo, as plantas de milho irrigadas com água de abastecimento (0.3 dS m<sup>-1</sup>) apresentaram IC de 0.33, ou seja, foi necessário 33% de matéria vegetativa para produzir os grãos. Enquanto que na concentração mais elevada de salinidade (2.3 dS m<sup>-1</sup>) se verificou baixíssimo transporte de fotoassimilados para produção do grão, com IC de 0.09 ou 9%, evidenciando o efeito deletério da salinidade sobre os estádios reprodutivos do milho, em decorrência de problemas anteriores, isto é, ocasionados nos estádios vegetativos. Além disso, percebeu-se que a inoculação não influenciou na produção dos grãos, considerando que não mitigou o efeito da salinidade nos estádios reprodutivos.

Cruz *et al.* (2017), em pesquisa sobre a assimilação de carbono e índice de colheita em mandioca cultivada sob estresse salino, verificaram redução do índice de colheita com o acréscimo dos níveis de salinidade da água, além disso, observaram que o IC indicou a sensibilidade dessa cultura à salinidade na produção, visto que a aplicação mínima de salinidade (20 mM), após a testemunha (abastecimento), já reduziu significativamente este índice. Contudo, em abacaxizeiro, Neto *et al.* (2017) não obtiveram significância da salinidade sob IC.

Irrigando girassol com águas salinas, Nobre *et al.* (2011) obtiveram decréscimo de IC de 17.3 % comparando as plantas irrigadas pelo controle (0.5 dS m<sup>-1</sup>) e o maior nível salino (4.9 dS m<sup>-1</sup>).

Em feijão, os resultados são parecidos, sendo às vezes justificados pela concentração salina inerente à água de irrigação. Oliveira *et al.* (2015), estudando a produção de feijão caupi em função da salinidade (0; 0.5; 3.5 e 5.0 dS m<sup>-1</sup>), não encontraram resposta significativa dos crescentes níveis de condutividade da água sobre o índice de colheita (IC), assim como Bezerra *et al.* (2010) (0.8; 2.2; 3.6 e 5.0 dS m<sup>-1</sup>) e Silva *et al.* (2013) (0.5; 2.2; 3.6 e 5.0 dS m<sup>-1</sup>).

Sob a aplicação de *Azospirillum brasilense*, os resultados obtidos na maioria dos estudos também são semelhantes, ou seja, não apresentam efeito significativo na variável de índice de colheita do trigo e milho (SILVA; PIRES, 2017; GIEHL, 2017; LIMA, 2018), podendo sugerir que essas bactérias, embora ajudem a obter resultados satisfatórios na fase de crescimento e nos processos fisiológicos da planta, pouco influenciam ou simplesmente não influenciam nas fases reprodutivas.

Portanto, percebe-se que este índice depende de diversos fatores, variando, principalmente, de acordo com o tipo de genótipo e diferentes concentrações de salinidade da água de irrigação. Júnior (2016) ainda complementa, salientando que o IC também depende das condições ambientais, época de plantio e duração do ciclo vegetativo e reprodutivo.

## 6. CONCLUSÕES

Os crescentes níveis de salinidade da água de irrigação e as doses crescentes de *Azospirillum brasilense* não afetaram a emergência das plântulas de milho.

Após o estágio V8, a altura da planta sofreu incremento até a salinidade 1.1 dS m<sup>-1</sup>. Além disso, o número de folhas e massa seca das folhas apresentaram acréscimo com

o aumento das concentrações salinas. No entanto, a salinidade afetou negativamente a área foliar e massa seca do colmo.

Houve interação entre os níveis de condutividade elétrica da água de irrigação e as doses de *Azospirillum brasilense* para a massa seca das raízes, ocorrendo incremento de MSF, em virtude do aumento das doses do inoculante bacteriano.

O inoculante bacteriano apresentou eficácia sob o conteúdo de clorofila e trocas gasosas, provocando também afeito positivo no aparato fotossintético das plantas submetidas até a condutividade de 1.1 dS m<sup>-1</sup>.

As concentrações salinas avaliadas afetaram negativamente o teor de água nas folhas e o extravasamento de eletrólitos.

Quanto à produção do milho, ocorreu decréscimo significativo da maioria das variáveis analisadas, com o aumento dos níveis de salinidade da água de irrigação, principalmente, massa e número de grãos por espiga.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, Francisco A. L.; FERREIRA-SILVA, S. L.; SILVEIRA, J. A. G.; PEREIRA, V. L. A. Efeito do Ca<sup>2+</sup> externo no conteúdo de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> em cajueiros expostos a salinidade. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.4, p.602-608, 2011.

AMORIM, A. V.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M. A.; PRISCO, J. T.; LACERDA, C. F. Respostas fisiológicas de plantas adultas de cajueiro anão precoce à salinidade. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, n.1, p.113-121, 2010.

ANDRADE, E. M. G.; LAIME, E. M. O.; FERNANDES, P. D.; LIMA, V. L. A.; SUASSUNA, J. F.; FILHO, L. T. S. Fluorescência da clorofila *a* da cana de açúcar irrigada com águas salinizadas no segundo ciclo do cultivo. *In: III INOVAGRI INTERNATIONAL MEETING*. Fortaleza. 2015. p. 3083-3092.

ANDRADE, F. H. A.; ARAÚJO, C. S. P.; BATISTA, W. F.; NETO, J. A. Q.; DANTAS, E. E. M.; ANDRADE, R. Comportamento da cultura do pimentão submetido a diferentes níveis de salinidade. **Journal of Biology and Pharmacy and Agricultural Management**, v.12, n.3, p.1-10, 2016.

ANDRADE, J. R. **Bioquímica e Ecofisiologia de clones de *Eucalyptus* submetidos à salinidade do solo na fase inicial de crescimento**. 2019. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2019.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v.24, n.1, p.1-15, 1949.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE MILHO. **Estatísticas**. Disponível em: [http://http://www.abimilho.com.br/estatisticas](http://www.abimilho.com.br/estatisticas). Acesso em: 15 abr. 2020.

AUDRY, P.; SUASSUNA, J. A. A qualidade da água na irrigação do trópico semiárido - um estudo de caso. *In: SEMINÁRIO FRANCO-BRASILEIRO DE PEQUENA IRRIGAÇÃO*, 1995, Recife; **Anais[...]** Recife: CNPq, SUDENE, p.147-153, 1995.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade da água na agricultura**. 1. ed. Campina Grande: UFPB, 1991.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade da água na agricultura**. 2. ed. Campina Grande: UFPB, 1999.

AZAIZEH, H.; GUNSE, B.; STEUDLE, E. Effects of NaCl and CaCl<sub>2</sub> on water transport across root cell of maize (*Zea mays* L.) seedlings. **Plant Physiology**, v.99, n.3, p.886-894, 1992.

AZIZIAN, A.; SEPASKHAH, A. R. Maize response to water, salinity and nitrogen levels: physiological growth parameters and gas exchange. **International Journal of Plant Production**, v.8, n.1, p.131-162, 2014.

BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. 2013. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.

BAKER, B. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, n.1, p. 89-113, 2008.

BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n.403, p.1607-1621, 2004.

BARBIERI, A. P. P.; HUTH, C.; ZEN, H. D.; BECHE, M.; HENNING, L. M. M.; LOPES, S. J. Tratamento de sementes de milho sobre o desempenho de plântulas em condições de estresse salino. **Revista de Ciências Agrárias**, v.57, n.3, p.305-311, 2014.

BARASSI, C. A.; SUELDO, R. J.; CREUS, C. M.; CARROZZI, L. E.; CASANOVAS, W. M.; PEREYRA, M. A. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. 1. ed. Córdoba: Asociación Argentina de Microbiología, p.49-59, 2008.

BARROS, G. S. C.; ALVES, L. R. A. Maior eficiência econômica e técnica depende do suporte das políticas públicas. **Visão Agrícola**, v.13, n.9, p.4-7, 2015.

BARROS, J. F. C.; CALADO, J. G. **A cultura do Milho. Texto de apoio para as Unidades Curriculares de Sistemas e Tecnologias Agropecuários, Tecnologia do Solo e das Culturas, Noções Básicas de Agricultura e Fundamentos de Agricultura Geral.** Universidade de Évora - Escola de Ciência e Tecnologia - Departamento de Fitotecnia. 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10174/10804>. Acesso em: 09 abr. 2020.

BARRS, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, v.15, n.3, p. 413-428, 1962.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v.50, n.8, p.521-577, 2004.

BLANCO, F. F.; FOLEGATTI, M.V.; GHEYI, H. R.; FERNANDES, P.D. Growth and yield of corn irrigated with saline water. **Scientia Agricola**, v.65, n.6, p. 574-580, 2008.

BEZERRA, A. K. P.; LACERDA, C. F.; HERNANDEZ, F. F. F.; SILVA, F. B.; GHEYI, H. R. Rotação cultural feijão caupi/milho utilizando-se águas de salinidades diferentes. **Ciência Rural**, v.40, n.5, p.1075-1082, 2010.

BEZERRA, I. L. **Irrigação com águas salinas e adubação nitrogenada no cultivo de goiabeira.** 2018. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2018.

BOUTON, J. H.; ZUBERER, D. A. Response of *Panicum maximum* Jacq. to inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Plant and Soil**, v.52, n.1, p.585–590, 1979.

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

BRITO G. G.; SOFIATTI, V.; LIMA, M. M. A.; CARVALHO, L. P.; FILHO, J. L. S. Physiological traits for drought phenotyping in cotton. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.33, n.1, p.117-125, 2011.

BRITO, M. E. B.; FILHO, G. D. A.; WANDERLEY, J. A. C.; MELO, A. S.; COSTA, F. B.; FERREIRA, M. G. P. Crescimento, fisiologia e produção do milho doce sob estresse hídrico. **Bioscience Journal**, v.29, n.5, p.1244-1254, 2013.

BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; BATTISTUS, A. G.; INAGAKI, A. M.; COSTA, N. V. Mitigation of drought stress effects on soybean gas exchanges induced by *Azospirillum brasilense* and plant regulators. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.49, n.1, p.1-9, 2019.

BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; EGEWARTH, V. A.; SANTOS, M. G.; HELING, A. L.; FERREIRA, S. D.; WENGRAT, A. P. G. S.; BATTISTUS, A. G. Crescimento e trocas gasosas no período vegetativo da soja inoculada com bactérias diazotróficas. **Nativa**, v.4, n.5, p.277-286, 2016.

BUNCE, J. A. Limitations to soybean photosynthesis at elevated carbondioxide in free-air enrichment and open top chamber systems. **Plant Science**, v. 226, p. 131-135, 2014.

CARDOSO, B. B. **Efeitos comparativos da salinidade sobre o metabolismo do nitrogênio em folhas e nódulos de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] inoculado com *Bradyrhizobium* sp.** 2000. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2000.

CASTRO, P. R. C.; FERREIRA, S. O.; YAMADA, T. **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba: POTAFOS, 1987.

CHICONATO, D. A. **Estresse salino em plantas jovens de cana-de-açúcar: respostas bioquímicas e fisiológicas**. 2016. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2016.

COÊLHO, K. J. F.; OLIVA, M. A. Eficiência no uso de água em plantas jovens de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) submetidas à deficiência hídrica. **Agropecuária Técnica**, v.2, n.1, p. 20-30, 1981.

COELHO, M. A.; SONCIN, N. B. **Geografia do Brasil**. São Paulo: Moderna, 1982.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Safra 2019/2020 – sexto levantamento, v.7, n.6, p.1-31, 2020.

CONUS, L. A.; CARDOSO, P. C.; VENTUROSOS, L. R.; SCALON, S. P. Q. Germinação de sementes e vigor de plântulas de milho submetidas ao estresse salino induzido por diferentes sais. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.4, p.67-74, 2009.

CORREIA, A. M. P. **Milho resistente ao glifosato inoculado com *Azospirillum* sp.** 2017. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2017.

CORREIA, K. G.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. R.; NOBRE, R. N.; SANTOS, T. S. Crescimento, produção e características de fluorescência da clorofila a em amendoim sob condições de salinidade. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 40, n. 4, p. 514-521, 2009.

COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. S. F.; NAVES, D. C. F.; SANTOS, C. B.; ROCHA, A. F. S. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of second-harvest maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.45, n.3, p.304-311, 2015.

CRUZ, J. C. **Cultivo do Milho; Sistema de Produções**. Versão Eletrônica. 7. ed. 2011.

CRUZ, J. C.; MONTEIRO, J. A.; SANTANA, D. P.; GARCIA, J. C.; BAHIA, F. G. F. T. C.; SANS, L. M. A.; PEREIRA FILHO, I. A. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996.

CRUZ, J. L.; FILHO, M. A. C.; COELHO, E. F.; SANTOS, A. A. Salinity reduces carbon assimilation and the harvest index of cassava plants (*Manihot esculenta* Crantz). **Acta Scientiarum**, v.39, n.4, p.545-555, 2017.

CRUZ, R. M. S.; JESUS, R. A.; SOUZA, M. P. F.; CAGNINI, C.; SABEC, G. Z.; SAVOLDI, T. L.; SOUZA, S. G. H. Crescimento inicial e resposta estomática de milho pipoca sob estresse salino. **Colloquium Agrariae**, v.15, n.1, p.15-26, 2019.

CUNHA, F.; SILVA, N.; BASTOS, F.; CARVALHO, J.; MOURA, L.; TEIXEIRA, M.; ROCHA, A.; SOUCHIE, E. Efeito da *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no sudoeste goiano. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n.3, p. 261-272, 2014.

DARTORA, J.; GUIMARAES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.10, p. 1023-1029, 2013.

DIAS, N. S.; BLANCO, F. F.; SOUZA, E. R.; FERREIRA, J. F. S.; NETO, O. N. S.; QUEIROZ, I. R. S. Efeitos dos sais na planta e tolerância das culturas à salinidade. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F.; FILHO, E. G. **Manejo da salinidade na agricultura**: estudos básicos e aplicados. 2. ed. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.151-162. 2016.

DÖBEREINER, J.; DAY, J. M. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN FIXATION, 1976, Pullman; **Proceedings** [...]. USA: Washington State University Press, 1976. 2 v.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.22, n.2, p.107-149, 2003.

DOMINGUES NETO, F. J. et al. Desenvolvimento e produtividade do milho verde safrinha em resposta à aplicação foliar com *Azospirillum brasilense*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 1030-1040, 2013.

ELANCHEZHIAN, R.; PANWAR, J.D.S. Effects of 2,4-D and *Azospirillum brasilense* on nitrogen fixation, photosynthesis and grain yield in wheat. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.178, n.1, p.129-133, 1997.

ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. New York: J. Wiley, 1977.

ESPASANDIN, F. D.; CALZADILLA, P. I.; MAIALE, S. J.; RUIZ, O. A.; SANSBERRO, P. A. Overexpression of the Arginine Decarboxylase Gene Improves Tolerance to Salt Stress in *Lotus tenuis* Plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 37, p. 156–165, 2018.

ESTEVEZ, B. S.; SUZUKI, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Brasiliensis**, v.12, n.4, p.662-679, 2008.

FANCELLI, A. L. Cultivo racional e sustentável requer maior conhecimento sobre planta do milho. **Visão Agrícola**, v.13, n.9, p. 20-23, 2015.

FERNANDES, P. D.; BRITO, M. E. B.; GHEYI, H. R.; ANDRADE, A. P.; MEDEIROS, S. S. Halofitismo e agricultura biohalofítica. *In*: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F.; FILHO, E. G. **Manejo da salinidade na agricultura**: estudos básicos e aplicados. 2. ed. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.209-242. 2016.

FERRAZ, R. L. de S.; MELO, A. S. de; SUASSUNA, J. F.; BRITO, M. E. B. de; FERNANDES, P. D.; NUNES JÚNIOR, E. da S. Trocas gasosas e eficiência fotossintética em ecótipos de feijoeiro cultivados no semiárido. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.42, n.2, p. 181-188, 2012.

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

FILHO, L. T. S. **Crescimento e produção de dois genótipos de cana-de-açúcar com suplementação de regas com águas salinizadas**. 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2013.

FILHO, L. T. S.; LAIME, E. L. O.; FERNANDES, P. D.; SUASSUNA, J. F.; SILVA, R. C. Efeito da salinidade nas trocas gasosas de duas cultivares de cana-de-açúcar. **Engenharia Ambiental**, v.11, n.2, p.67-82, 2014.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBÓ, M. Keeping a positive balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. **Physiologia Plantarum**, v. 127, n.3, p. 343-352, 2006.

FREIRE, M. B. G. S. & FREIRE, F. J. Fertilidade do solo e seu manejo em solos afetados por sais. *In*: NOVAIS, R. F. **Fertilidade do solo**. 1. ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. p. 929-954. 2007.

FRENKEL, H. Reassessment of water quality criteria for irrigation. *In*: SHAINBERG. I.; SHALHEVET, J. **Soil salinity under irrigation**. Berlin: Springer-Verlag, p.143-172, 1984.

FRITSCHÉ-NETO, R.; MÔRO, G. V. Escolha do cultivar é determinante e deve considerar toda informação disponível. **Visão Agrícola**, v.13, n.9, p.12-15, 2015.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v.6, n.3, p.1-13, 2016.

GARCIA DE SALAMONE, I.E.; DOBEREINER, J.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain-maize genotype associations as evaluated by the <sup>15</sup>N isotope dilution technique. **Biology and Fertility of Soils**, v.23, n.3, p. 249–256, 1996.

GIEHL, J. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* em híbridos comerciais de milho**. 2017. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017.

GOMES, K. R.; AMORIM, A. V.; FERREIRA, F. J.; FILHO, F. L. A.; LACERDA, C. F.; GOMES-FILHO, E. Respostas de crescimento e fisiologia do milho submetido a estresse salino com diferentes espaçamentos de cultivo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.4, p.365-370, 2011.

GONÇALVES, G. M. B. **Desempenho agrônômico e adaptativo e divergência genética de populações de milho local derivadas de MPA1 em processo de melhoramento genético**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

GORDILLO-DELGADO, F.; MARÍN, E.; CALDERÓN, A. Effect of *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia unamae* bacteria on maize photosynthetic activity evaluated

using the photoacoustic technique. **International Journal of Thermophysics**, v.37, n.92, p. 1-11, 2016.

GRACIANO, E. S. A.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; LIMA, D. R. M.; PACHECO, C. M.; SANTOS, R. C. Crescimento e capacidade fotossintética da cultivar de amendoim BR 1 sob condições de salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.8, p.794-800, 2011.

GREENWAY, H.; MUNNS, R. Mechanisms os salt tolerance in nonhalophytes. **Annual Review of Plant Physiology**, v.31, n.1, p.149-190, 1980.

HOLANDA, J. S.; AMORIM, J. R. A.; NETO, M. F.; HOLANDA, A. C.; SÁ, F. V. S. Qualidade da água para irrigação. *In*: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F.; FILHO, E. G. **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. 2. ed. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.35-50. 2016.

HOLANDA FILHO, R. S. F. de; SANTOS, D. B. DOS; AZEVEDO, C. A. V.; COELHO, E. V.; DANTAS NETO, J. Água salina nos atributos fisiológicos e na produtividade da mandiocueira. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.8, n.1, p.57-65, 2013.

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

JAIMEZ, R. E.; RADA, F.; GÁRCIA-NÚÑEZ, C.; AZÓCAR, A. Seasonal variations in leaf gas exchanges of plantain cv. Hartón (Musa AAB) under different soil water conditions in a humid tropical region. **Scientia Horticulturae**, v.104, n.1, p.79-89, 2005.

JAMIL, M., REHMAN, S., LEE, K. J., KIM, J. M., KIM, H. S. AND RHA, E. S. Salinity reduced growth PSII photochemistry and chlorophyll content in radish. **Science Agricultural**, v.64, n.2, p. 1-10, 2007.

JORDÃO, L. T.; LIMA, F. F., LIMA, R. S.; MORETTI, P. A. E.; PEREIRA, H. V.; MUNIZ, A. S.; OLIVEIRA, M. C. N. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* 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, 8. **Anais[...]**. Guarapari: FERTIBIO, 2010.

JÚNIOR, R. A. P. **Controle genético do índice de colheita no feijoeiro**. 2016. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

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

KATERJI, N.; VAN HOORN, J.W.; HAMDY, A.; MASTRORILLI, M. Comparison of corn yield response to plant water stress caused by salinity and by drought. **Agricultural Water Management**, v.65, n.2, p.95-101, 2004.

KAZI, N.; DEAKER, R.; WILSON, N.; MUHAMMAD, K.; TRETOWAN, R. The response of wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense* in the field. **Field Crops Research**, v.196, n.1, p.368-378, 2016.

LACERDA, C. F.; SOUSA, G. G.; SILVA, F. L. B.; GUIMARÃES, F. V. A.; SILVA, G. L.; CAVALCANTE, L. F. Salinização do solo e produtividade do milho e feijão em sistema de rotação cultural utilizando águas salinas. **Engenharia Agrícola**, v.31, n.04, p.663-675, 2011.

LAMBRECHT, M., OKON, Y., VANDE BROEK, A., VANDERLEYDEN, J. Indole-3-acetic acid, a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interaction. **Trends in Microbiology**, v. 8, n.7, p. 298-300, 2000.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v.148, p. 350-381, 1987.

LIMA, C. S. **Rendimento da cultura do milho em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* associado a diferentes doses de nitrogênio e plantas de cobertura**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônômica) – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2018.

LIMA, M. G. S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A.; MENDES, C. R. Efeito do estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. **Bragantia**, v.63, n.3, p.335-340, 2004.

LÓPEZ-AGUILAR, R.; MEDINA-HERNÁNDEZ, D.; ASCENCIO-VALLE, F.; TROYO-DIEGUEZ, E.; NIETO-GARIBAY, A.; ARCE-MONTOYA, MARIO.; LARRINAGA-MAYORAL, J..A.; GÓMEZ-ANDURO, G. A. Differential responses of Chiltepin (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) and Poblano (*Capsicum annuum* var. *annuum*) hot peppers to salinity at the plantlet stage. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.11, p. 2642-2653, 2012.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. **Fisiologia da produção do milho**. Sete Lagoas: Circular Técnica n° 76, 2006.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho**. Sete Lagoas: Circular Técnica n° 20, 1995.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia do Milho**. Sete Lagoas: Circular Técnica n° 22, 2002.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MARINI, D.; GUIMARÃES, V. F.; DARTORA, J.; LANA, M. C.; PINTO JÚNIOR, A. S. Growth and yield of corn hybrids in response to association with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization. **Revista Ceres**, v.62, n.1, p. 117-123, 2015.

MARTINS, T. G.; JÚNIOR, S. P. F.; LUZ, L. N.; MARCO, C. A.; VÁSQUEZ, E. M. F. Inoculation efficiency of *Azospirillum brasilense* na economia de fertilizantes nitrogenados em milho pipoca crioulo. **Revista Ciência Agronômica**, v.49, n.2, p.283-290, 2018.

MEDEIROS, J. F. **Qualidade de água de irrigação e evolução da salinidade nas propriedades assistidas pelo GAT nos Estados de RN, PB e CE**. 1992. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 1992.

MELO, H. F.; SOUZA, E. R.; DUARTE, H. H. F.; CUNHA, J. C.; SANTOS, H. R. B. Gas exchange and photosynthetic pigments in bell pepper irrigated with saline water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n.1, p. 38-43, 2017.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009.

MIYAUCHI, M. Y. H.; LIMA, D. S.; NOGUEIRA, M. A.; LOVATO, G. M.; MURATE, L. S.; CRUZ, M. F.; FERREIRA, J. M.; ZANGARO, W.; ANDRADE, G. Interactions between diazotrophic bacteria and mycorrhizal fungus in maize genotypes. **Scientia Agrícola**, v.65, n.5, p.525-531, 2008.

MONTEIRO, D. R. **Status hídrico, trocas gasosas e fluorescência da clorofila em sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* L. Moench) irrigado com água salina**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2016.

MONTEIRO, D. R.; MELO, H. F.; LINS, C. M. T.; DOURADO, P. R. M.; SANTOS, H. R. B.; SOUZA, E. R. Chlorophyll a fluorescence in saccharine sorghum irrigated with saline water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.22, n.10, p.673-678, 2018.

MOREIRA, R. C.; VALADÃO, F. C. A.; JÚNIOR, D. D. V. Desempenho agrônomico do milho em função da inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada. **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v.62, n.1, p.1-10, 2018.

MOURATO, M.; REIS, R.; MARTINS, L. L. Characterization of plant antioxidative system in response to abiotic stresses: a focus on heavy metal toxicity. *In*: MONTANARO, G.; DICHIO, B. **Advances in Selected Plant Physiology Aspects**. InTech. p. 23-44. 2012.

MOUSSA, H. R.; GALAD, M. A. E. Comparative response of salt tolerant and salt sensitive maize (*Zea mays* L.) cultivars to silicon. **European Journal of Academic Essays**, v.2, n.1, p.1-5, 2015.

MUMBACH, G. L.; KOTOWSKI, I. E.; SCHNEIDER, F. J. A.; MALLMANN, M. S.; BONFADA, E. B.; PORTELA, V. O.; KAISER, D. R. Resposta da inoculação com *Azospirillum brasilense* nas culturas de trigo e de milho safrinha. **Scientia Agraria**, v.18, n.2, p.97-103, 2017.

NABATI, J.; KAFI, M.; MEHRJERDI, M. Z. Effect of salinity and silicon application on photosynthetic characteristics of sorghum (*Sorghum bicolor* L.). **International Journal of Agricultural Sciences**, v.3, n.4, p.483-492, 2013.

NAZÁRIO, A. A.; BESTETE, L. O.; GARCIA, G. O.; REIS, E. F.; CECÍLIO, R. A. Desenvolvimento e produção do milho irrigado com água de diferentes condutividades elétricas. **Engenharia Ambiental**, v.10, n.2, p.117-130, 2013.

NETO, M. B.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. R.; LACERDA, J. T.; CARVALHO, R. A. Influência da salinidade da água de irrigação na produção e qualidade de frutos em genótipos de abacaxizeiro. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v.11, n.6, p.71-79, 2017.

NETTO, A. O. A.; GOMES, C. C. S.; LINS, C. C. V.; BARROS, A. C.; CAMPECHE, L. F. S. M.; BLANCO, F. F. Características químicas e salino-sodicidade dos solos do Perímetro Irrigado Califórnia, SE, Brasil. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1640-1645, 2007.

NIDERA SEMENTES. **NS 50 RR2, PRO, PRO2**. Disponível em: <http://www.niderasementes.com.br/produto/ns-50-pro--centro.aspx>. Acesso em: 07 abr. 2020.

NOBRE, R. G.; GHEYI, H. R.; SOARES, F. A. L.; CARDOSO, J. A. F. Produção de girassol sob estresse salino e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.35, n.3, p.929-937, 2011.

NONATO, J. J. **Nutrição, fisiologia e produtividade de soja inoculada com *Azospirillum brasilense* e reguladores vegetais**. 2016. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2016.

NOVAIS, R. F.; NEVES, J. C. L.; BARROS, N. F. Ensaio em ambiente controlado. *In: Métodos de pesquisa em ambiente controlado*. Brasília: EMBRAPA. 1991.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biology Biochemistry*, v.12, n.26, p.1591-1601, 1994.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. ***Applied and Environment Microbiology***, v.6, n.7, p.366-370, 1997.

OLIVEIRA, F. A.; MEDEIROS, J. F.; ALVES, R. C.; LIMA, L. A.; SANTOS, S. T.; RÉGIS, L. R. L. Produção de feijão caupi em salinidade e regulador de crescimento. ***Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental***, v.19, n.11, p.1049-1056, 2015.

OLIVEIRA, H. **Germinação e crescimento inicial de algodão colorido submetido aos estresses hídrico e salino**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2017.

OLIVEIRA, W. J.; SOUZA, E. R.; SANTOS, H. R. B.; SILVA, E. F. F.; DUARTE, H. H. F.; MELO, D. V. M. Fluorescência da clorofila como indicador de estresse salino em feijão caupi. ***Revista Brasileira de Agricultura Irrigada***, v.12, n.3, p.2592-2603, 2018.

PAES, M. C. D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Sete Lagoas: Circular Técnica n° 75, 2006.

PANDA, S. K.; BALUSKA, F.; MATSUMOTO, H. Aluminum stress signaling in plants. ***Plant Signaling Behavior***. v.4, n.7, p. 592 – 597, 2009.

PARANHOS, J. T.; MARCHEZAN, E.; DUTRA, L. M. C. Rendimento de grãos, índice de colheita e componentes do rendimento de três cultivares de arroz irrigado. ***Ciência Rural***, v.21, n.2, p.169-177, 1991.

PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. ***Ecotoxicology and Environment Safety***, v.60, n.3, p.324-349, 2005.

PEREIRA, A. R., MACHADO, E. C. **Análise quantitativa do crescimento de comunidades vegetais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1987.

PEREIRA, E. R. de L. **Tolerância de genótipos do algodão colorido ao estresse salino**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012.

PEREIRA, L. M.; PEREIRA, E. M.; REVOLTI, L. T. M.; ZINGARETTI, S. M.; MÔRO, G. V. Seed quality, chlorophyll content index and leaf nitrogen levels in maize inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Revista Ciência Agronômica**, v.46, n.3, p.630-637, 2015.

PEREIRA, W. E.; SIQUEIRA, D. L.; MARTINEZ, C.; PUIATTI, M. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 157, n.5, p. 513-520, 2000.

PICAZEVICZ, A. A. C. **Crescimento do milho em resposta a *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici*, molibdênio e nitrogênio**. 2017. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2017.

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

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia vegetal*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

RETHATI, B.; DALLMANN, K.; SIMON, I. K.; BALINT, A. Characterization of hungarian rice cultivars in nitrogen fixing associations with bacteria. **Cereal Research Communications**, v. 28, p. 9-16, 2000.

RIBEIRO, R. H.; BESEN, M. R.; FIGUEROA, L. V.; IWASAKI, G. S.; GUGINSKI-PIVA, C. A.; SARTOR, L. R.; PIVA, J. T. Seed and leaf inoculation with *Azospirillum brasilense* and increasing nitrogen in wheat production. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.13, n.3, p.1-8, 2018.

RICARDI, M.; ROSA, H. A. Desenvolvimento inicial do milho submetido a estresse salino. **Cultivando o Saber**, edição especial, p.174-184, 2018.

RICHARDS, L. A. **Diagnosis and improvement of saline and alkali soils**. Washington D.C.: U.S. Department of Agriculture, 1954.

RHOADES, J. D.; KADIAH, A.; MASHALI, A. M. **The use of saline waters for crop production**. Rome: FAO, 1992.

ROCKENBACH, M. D. A.; ALVAREZ, J. W. R.; FOIS, D. A. F.; TIECHER, T.; KARAJALLO, J. C.; TRINIDAD, S. A. Eficiência da aplicação de *Azospirillum brasilense* associado ao nitrogênio na cultura do milho. **Acta Iguazu**, v.6, n.1, p.33-44, 2017.

RUSSO, A.; VETTORI, L.; FELICI, C.; FIASCHI, G.; MORINI, S.; TOFFANIN, A. Enhanced micropropagation response and biocontrol effect of *Azospirillum brasilense* Sp245 on *Prunus cerasifera* L. clone Mr.S 2/5 plants. **Journal of Biotechnology**, v. 134, n.3-4, p. 312–319, 2008.

SANGOI, L.; SILVA, L. M. M.; MOTA, M. R.; PANISON, F.; SCHMITT, A.; SOUZA, N. M.; GIORDANI, W.; SCHENATTO, D. E. Desempenho agrônômico do milho em razão do tratamento de sementes com *Azospirillum sp.* e da aplicação de doses de nitrogênio mineral. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.39, n.1, p.1141-1150, 2015.

SANTOS, W. O. **Necessidades hídricas, desenvolvimento e análise econômica do milho nas condições do semiárido brasileiro**. 2012. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2012.

SCHAEFER, P. E. **Inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho na integração lavoura-pecuária e relação com doses de nitrogênio, umidade do solo e pH's em solução**. 2016. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

SCHOSSLER, T. R.; MACHADO, D. M.; ZUFFO, A. M.; ANDRADE, F. R.; PIAULINO, A. C. Salinidade: efeitos na fisiologia e na nutrição mineral de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15, p.1563-1578, 2012.

SCOTTI C. P.; THU PHAN THI, A. Effect of abscisic acid pretreatment on membrane leakage and lipid composition of *Vigna unguiculata* leaf discs subject to osmotic stress. **Plant Science**, v.130, n.1, p.11-18, 1997.

SILOTO, R. C. **Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho.** 2002. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2002.

SILVA, D. A. O.; SANTOS, W. M.; SILVA, T. S. S.; FERNANDES, S. P.; CARNEIRO, P. T.; SANTOS, C. G. Desempenho da alface (*Lactuca sativa L.*) submetida a diferentes níveis de salinidade da água de irrigação. **Revista Ambientale**, v.10, n.3, p.32-41, 2018.

SILVA, F. A.; FERREIRA, A. A.; LIMA, D. C.; MEDEIROS, A. C.; MARACAJÁ, P. B.; MEDEIROS, A. P. Estresse salino e adubação mineral na composição nutricional da cultura do milho. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v.11, n.1, p.76-83, 2017.

SILVA, F. G.; DUTRA, W. F.; DUTRA, A. F.; OLIVEIRA, I. M.; FILGUEIRAS, L. M. B.; MELO, A. S. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de berinjela sob lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.10, p. 946-952, 2015.

SILVA, F. L. B.; LACERDA, C. F. DE; NEVES, A. L. R.; SOUSA, G. G.; SOUSA, C. H. C.; FERREIRA, F. J. Irrigação com águas salinas e uso de biofertilizante bovino nas trocas gasosas e produtividade de feijão-de-corda. **Irriga**, v.18, n.2, p.304-317, 2013.

SILVA, L. A.; BRITO, M. E. B.; SÁ, F. V. S.; MOREIRA, R. C. L.; SOARES FILHO, W. S.; FERNANDES, P. D.; Physiological mechanisms in citrus hybrids under saline stress in hydroponic system. **Revista Brasileirade Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. supplement, p. S1-S7, 2014.

SILVA, M. de A.; SANTOS, C. M. dos; VITORINO, H. dos S.; RHEIN, A. F. de L. Pigmentos fotossintéticos e índice spad como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, v.30, n.1, p. 173-181, 2014.

SILVA, M. M. P. da; VASQUEZ, H. M.; BRESSAN-SMITH, R.; J. F. C.; ERBESDOBLER, E. D.; ANDRADE JÚNIOR, P. S. C. Eficiência Fotoquímica de gramíneas forrageiras tropicais submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p. 67-74, 2006.

SILVA, P. P.; SOARES, L.; COSTA, J. G.; VIANA, L. V.; ANDRADE, J. C. F.; GONÇALVES, E. R.; SANTOS, J. M.; BARBOSA, G. V. S.; NASCIMENTO, V. X.;

TODAROE, A. R.; RIFFEL, A.; GROSSI-DE-SAF, M. F.; BARBOSA, M. H. P.; SANT'ANAC, A. E. G.; RAMALHO NETO, C. E. Path analysis for selection of drought tolerant sugarcane genotypes through physiological components. **Industrial Crops and Products**, v. 37, n.1, p. 11-19, 2012.

SILVA, S. R.; PIRES, J. L. F. Resposta do trigo BRS Guamirim à aplicação de *Azospirillum*, nitrogênio e substâncias promotoras de crescimento. **Revista Ciência Agronômica**, v.48, n.4, p.631-638, 2017.

SILVA, S. S. **Cultivo de milho sob irrigação com águas salinas e doses de esterco bovino**. 2016. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2016.

SILVA, T. C. da.; BEZERRA, F. M. L.; PEREIRA FILHO, J. V.; CHAGAS, K. L.; DOÓ, L. M. G.; SILVA, A. R. A. da. Crescimento inicial e índice SPAD de cultivares defeijão-caupi submetidas a estresse hídrico e salino. *In*: NOVAGRI INTERNATIONAL MEETING, 3., 2015, Fortaleza; **Anais[...]**. Fortaleza, 2015.

SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, S. L. F.; SILVA, E. N.; VIEGAS, R. A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. *In*: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F.; FILHO, E. G. **Manejo da salinidade na agricultura**: estudos básicos e aplicados. 2. ed. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.181-197. 2016.

SOARES, S.; MILANI, M.; BELTRÃO, N. E. M. **Mamona: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

SOUSA, G. G.; MARINHO, A. B.; ALBUQUERQUE, A. H. P.; VIANA, T. V. A.; AZEVEDO, B. M. Crescimento inicial do milho sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino irrigado com águas salinas. **Revista Ciência Agronômica**, v.43, n.2, p.237-245, 2012.

SOUSA, G. G.; VIANA, T. V. A.; SILVA, G. L.; DIAS, C. N.; AZEVEDO, B. M. Interação entre salinidade e biofertilizante de caranguejo na cultura do milho. **Magistra**, v.28, n.1, p.44-53, 2016.

SOUSA, J. R. M.; GHEYI, H. R.; BRITO, M. E. B.; SILVA, F. A. F. D.; LIMA, G. S. Dano na membrana celular e pigmentos clorofilianos de citros sob águas salinas e adubação nitrogenada. **Irriga**, v.22, n.2, p.353-368, 2017.

SOUZA, M. C. G.; **Efeito do estresse salino em *Hyptis suaveolens* (Lamiacea) associado a fungos micorrízicos**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) – Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Mossoró, 2018.

SOUZA, M. W. L.; CUNHA, R. C.; COSTA, P. A. A.; MOURA, I. N. B. M.; BEZERRA, M. F. S.; LIMA, L. A.; PEREIRA, L. A. F.; OLIVEIRA, F. A. Desenvolvimento inicial de milho doce e milho de pipoca sob estresse salino. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v.10, n.3, p.65-72, 2014.

SOUZA, Y. A.; PEREIRA, A. L.; SILVA, F. F. S.; REIS, R. C. R.; EVANGELISTA, M. R. V.; CASTRO, R. D.; DANTAS, B. F. Efeito da salinidade na germinação de sementes e no crescimento inicial de mudas de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.2, p.83-92, 2010.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J. Auxin Signaling in *Azospirillum brasilense*: A Proteome Analysis. In: BRUIJIN, F. J.; SONS, J. W. **Biological Nitrogen Fixation**. Hoboken: New Jersey, p. 937-940, 2015.

SZABOLCS, I. **Salt affected soils**. Florida: Library of Congress, 1989.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

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

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**, v.37, n.5, p.1016-1024, 1979.

TOLLENAAR, M. Is low plant density a stress in maize? **Maydica**, v.37, n.2, p.305-311, 1992.

VERONA, D.A.; DUARTE JUNIOR, J.B.; ROSSOL, C.D.; ZOZ, T.; COSTA, A.C.T. Tratamento de Sementes de Milho com Zeavit®, Stimulate® e Inoculação com

*Azospirillum* sp. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 18., 2010, Goiânia; **Anais**[...]. Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010.

VILLA, B.; SANTOS, R. F.; SECCO, D.; JUNIOR, L. A. Z.; TOKURA, L. K.; PRIOR, M.; REIS, L. S.; SILVA, D. R. Efeito da salinidade no desenvolvimento inicial do milho. **Acta Iguazu**, v.8, n.3, p.42-47, 2019.

VOGEL; G. F.; MARTINKOSKI, L.; MARTINS, P. J.; BICHEL, A. Desempenho agronômico de *Azospirillum brasilense* na cultura do arroz: uma revisão. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.6, n.3, p.567-578, 2013.

WILLADINO, L.; CÂMARA, T.R.; ANDRADE, A.G.; TABOSA, J.N. Tolerancia de cultivares de maiz a la salinidad en diferentes fases de desarrollo. In: SIMPOSIO NACIONAL SOBRE NUTRICIÓN MINERAL DE LAS PLANTAS, 4., Alicante; **Anais**[...] Alicant: Universidad de Alicante, 1992.

WILLADINO, L.; CÂMARA, T. R.; TABOSA, J. N.; ANDRADE, A. G.; GOMES, R. V.; SOUZA, A. J. Avaliação de cultivares de milho em solo salino do semiárido de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, n.7, p.1059-1065, 1994.

XIONG, D.; CHEN, J.; YU, T.; GAO, W.; LING, X.; LI, Y.; PENG, S.; HUANG, J. SPAD-based leaf nitrogen estimation is impacted by environmental factors and crop leaf characteristics. **Scientific Reports**, v.5, n.13389, p. 1-12, 2015.