



Núcleo de Meio Ambiente
Universidade Federal do Pará
Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá
Belém, Pará, Brasil

<https://periodicos.ufpa.br/index.php/agroecossistemas>

Luiz Eduardo Tilhaqui Bertasello
Universidade Estadual Paulista
luiz.bertasello@unesp.br

Anderson Prates Coelho
Universidade Estadual Paulista
anderson_100ssp@hotmail.com

Gustavo Vitti Mório
Universidade Estadual Paulista
gv.moro@unesp.br

Recebido em: 2020-04-23
Avaliado em: 2020-08-02
Aceito em: 2020-09-04

DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE MILHO CULTIVADOS SOB ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense*

RESUMO: Objetivou-se caracterizar e avaliar o desempenho agrônômico de genótipos de milho submetidos a dois manejos de fornecimento de nitrogênio (químico e biológico). O experimento foi conduzido na primeira safra (safra de verão) do ano agrícola de 2017/2018, utilizando-se 48 genótipos de milho. Foram adotados dois manejos de fornecimento de nitrogênio em cobertura, sendo eles (1) aplicação de 140 kg ha⁻¹ de nitrogênio mineral em cobertura (ureia) e (2) inoculação com *Azospirillum brasilense* (600 mL ha⁻¹ via solo). Os dados foram submetidos a análises exploratórias multivariadas de agrupamento, por método hierárquico, e de componentes principais. Foram identificados quatro grupos, associando as maiores produtividades de grãos com plantas com maior altura e as menores produtividades com período de florescimento curto, plantas com menor altura e com maiores taxas de quebramento e acamamento. Os dois primeiros componentes principais explicaram 70,67% e 66,54% da variabilidade total dos dados para a inoculação com *A. brasilense* e adubação nitrogenada em cobertura, respectivamente. As análises exploratórias de dados são ferramentas eficientes na caracterização, seleção e agrupamento de genótipos superiores e contrastantes de milho aos manejos de fornecimento de nitrogênio.

PALAVRAS-CHAVE: Análise multivariada, Bactéria diazotrófica, *Zea mays* L.

GENETIC DIVERGENCE OF CORN GENOTYPES CULTIVATED UNDER NITROGEN FERTILIZATION AND INOCULATION WITH *Azospirillum brasilense*

ABSTRACT: The aim was to characterize and evaluate the agronomic performance of corn genotypes submitted to two nitrogen supply managements (chemical and biological). The experiment was conducted in the first season (summer season) of the 2017/2018 agricultural year, using 48 corn genotypes. Two managements of nitrogen supply in topdressing were adopted, namely (1) application of 140 kg ha⁻¹ of mineral nitrogen in coverage (urea) and (2) inoculation with *Azospirillum brasilense* (600 mL ha⁻¹ via soil). The data were submitted to exploratory multivariate analysis of grouping, by hierarchical method, and of main components. Four groups were identified, associating the highest grain yields with plants with higher height and the lowest yields with short flowering period, plants with shorter height and with higher rates of breakage and lodging. The first two main components explained 70.67% and 66.54% of the total variability of the data for inoculation with *A. brasilense* and nitrogen fertilization in topdressing, respectively. Exploratory data analysis is an efficient tool in the characterization, selection and grouping of superior and contrasting maize genotypes for nitrogen supply management.

KEYWORDS: Multivariate analysis, Diazotrophic bacteria, *Zea mays* L.

DIVERGENCIA GENÉTICA DE GENOTIPOS DE MAÍZ CULTIVADOS BAJO FERTILIZACIÓN NITROGENADA E INOCULACIÓN CON *Azospirillum brasilense*

RESUMEN: El objetivo fue caracterizar y evaluar el rendimiento agronómico de los genotipos de maíz sometidos a dos gestiones de suministro de nitrógeno (químico y biológico). El experimento se realizó en la primera cosecha (cosecha de verano) del año agrícola 2017/2018, utilizando 48 genotipos de maíz. Se adoptaron dos gestiones de suministro de nitrógeno en cobertura, a saber (1) la aplicación de 140 kg ha⁻¹ de nitrógeno mineral en cobertura (urea) y (2) la inoculación con *Azospirillum brasilense* (600 ml ha⁻¹ a través del suelo). Los datos se sometieron a análisis exploratorios multivariados de agrupación, por método jerárquico y de componentes principales. Se identificaron cuatro grupos, que asociaron los rendimientos de grano más altos con plantas con mayor altura y los rendimientos más bajos con un período de floración corto, plantas con altura más corta y con mayores tasas de rotura y alojamiento. Los primeros dos componentes principales explicaron el 70.67% y el 66.54% de la variabilidad total de los datos para la inoculación con *A. brasilense* y la fertilización nitrogenada en cobertura, respectivamente. El análisis exploratorio de datos es una herramienta eficiente en la caracterización, selección y agrupamiento de genotipos de maíz superiores y contrastantes para el manejo de la oferta de nitrógeno.

PALABRAS CLAVES: Análisis multivariante, Bacterias diazotróficas, *Zea mays* L.

INTRODUÇÃO

Mundialmente, a cultura do milho tem elevada importância econômica e social, apresentando área cultivada de 191 milhões de ha e produção total de 1.123 milhões de toneladas (USDA, 2019). No Brasil, o milho é a segunda cultura agrícola com maior área plantada, com 17 milhões de ha, perdendo apenas para a soja (CONAB, 2019). Comparando com outros países como, os Estados Unidos da América (EUA), a produtividade do milho no Brasil é baixa, apresentando valor de 5,8 t ha⁻¹, frente a 11,1 t ha⁻¹ nos EUA (USDA, 2019). Dentre os principais fatores que levam a esse baixo rendimento do milho no Brasil, pode-se destacar o manejo de fornecimento de nitrogênio.

Observa-se na literatura incrementos lineares na produtividade do milho em função do aumento de doses de N mineral (SORATTO et al., 2010; CARMO et al., 2012). Devido à dificuldade de gramíneas em apresentar fixação com microrganismos para o fornecimento de N, as doses de N para a obtenção de máximas produtividades nessas culturas

podem ultrapassar 150 kg ha⁻¹ (CARMO et al., 2012). Nesse sentido, a utilização de manejos alternativos pode reduzir a demanda de N mineral dessas culturas para a obtenção de elevadas produtividades, reduzindo o custo com fertilizantes e incrementando a receita do produtor. Assim, técnicas como a inoculação de gramíneas com bactérias do gênero *Azospirillum* spp. tem apresentado resultados satisfatórios na cultura do milho (HUNGRIA et al., 2010; FARINELLI; LEMOS 2012; CURÁ et al., 2017).

O milho é uma cultura exigente em N, apresentando exportação desse nutriente de até 220 kg por hectare (SILVA et al., 2018). Para suprir a demanda de N pela cultura e para a obtenção de elevadas produtividades, muitos produtores utilizam apenas a adubação mineral como fonte de N para o milho. Devido a elevada demanda de fertilizantes nitrogenados no Brasil, grande parte desse produto é importado pelo país, fato que eleva os custos de produção. Em função desse elevado custo, muitos produtores fazem o manejo da

adubação nitrogenada no milho em quantidade inferior a ideal, uma vez que esse manejo pode ser responsável por até 30% do custo de produção da lavoura (IMEA, 2019). Além disso, a utilização de fertilizantes minerais fomenta o consumo de fontes de energia não renováveis, uma vez que o petróleo é uma das matérias-primas para a fabricação de fertilizantes nitrogenados.

Visando a redução dos custos de produção, aumento de produtividade e maior sustentabilidade ambiental, manejos agrícolas mais sustentáveis como, a inoculação de plantas com *Azospirillum brasilense*, vem sendo utilizados para o fornecimento de N para culturas, especialmente o milho (MARINI et al., 2015; GALINDO et al., 2016; PORTUGAL et al., 2016). Verifica-se que a inoculação de *Azospirillum brasilense* no milho, juntamente com a adubação mineral, incrementa a produtividade da cultura em mais de 20% (GALINDO et al., 2016). Além disso, estudos indicam que o aumento da produtividade do milho a partir da inoculação com *Azospirillum brasilense*

pode variar em função de diversos fatores, destacando-se o clima, o tipo de solo e a cultivar utilizada (FERREIRA et al., 2013; MARINI et al. 2015; BRUSAMARELLO-SANTOS et al., 2017).

O *A. brasilense* é uma bactéria diazotrófica que atua na planta estimulando a produção de hormônios como auxina, citocinina e giberelina (BASHAN; DE-BASHAN, 2010), sendo responsáveis pelo crescimento da parte aérea e raízes da cultura (TAIZ; ZEIGER, 2013), além da fixação biológica de nitrogênio as bactérias protegem as raízes contra organismos patogênicos no microbioma da rizosfera (SOUZA et al., 2017).

Com o objetivo de maximizar os manejos agrícolas, a utilização do genótipo adequado é fundamental, pois tanto a adubação nitrogenada em cobertura quanto a inoculação com *A. brasilense* apresentam respostas variáveis de acordo com o genótipo (FARINELLI; LEMOS 2012; MARINI et al., 2015). A avaliação de linhagens promissoras para cada manejo é passo fundamental em programas de melhoramento, pois permite a seleção

de genótipos adaptados para cada sistema, auxiliando nas práticas de manejo e recomendações para a cultura do milho. Nesse sentido, verifica-se que a utilização de técnicas exploratórias de dados tem permitido a seleção de genótipos de interesse com maior rapidez e precisão, quando comparado com as técnicas convencionais de melhoramento (SIMON et al., 2012; LOPES et al. 2014). Assim, técnicas exploratórias de dados podem permitir agrupar e identificar divergências de resposta de genótipos de milho (HAIR et al., 2009) submetidos a adubação nitrogenada em cobertura e inoculação com *Azospirillum brasilense*.

O objetivo foi caracterizar e avaliar o desempenho agrônomo de genótipos de milho submetidos a dois manejos de fornecimento de nitrogênio (químico e biológico) utilizando técnicas exploratórias de dados.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na primeira safra do ano agrícola de 2017/2018 na Faculdade de Ciências

Agrárias e Veterinárias, Unesp, Campus de Jaboticabal, SP. A área foi localizada próximas às coordenadas com latitude 21° 14' 05" S e longitude 48° 17' 09" W, com altitude média de 615 m. Segundo classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Aw, sendo caracterizado como tropical úmido com estação chuvosa no verão e inverno seco. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho eutrófico (EMBRAPA, 2013).

Foram utilizados 48 genótipos de milho (*Zea mays* L.), correspondentes à 46 populações sintéticas, obtidas por meio do cruzamento aleatório de linhagens endogâmicas pertencentes a empresa Phoenix agrícola Ltda, mais duas testemunhas comerciais, sendo a variedade AL Bandeirantes e o híbrido DKB390 VTPRO2. A semeadura ocorreu em um delineamento de blocos ao acaso, dispostos em faixas, com três repetições, utilizando semeadora de parcelas. Para a adubação de semeadura, foram utilizados 350 kg ha⁻¹ do formulado 8-28-16. Cada parcela foi constituída por quatro linhas de 5 m de comprimento,

com espaçamento de 0,50 m entre linhas e 0,33 m entre plantas, representando uma população de 60.000 plantas ha⁻¹, utilizando-se as duas linhas centrais como parcela útil no momento das avaliações e colheita.

Todos os genótipos foram submetidos a dois fornecimentos de nitrogênio, sendo (1) adubação nitrogenada de cobertura com ureia (45% de N), aplicando-se dose de 140 kg ha⁻¹ de N, em forma de filete contínuo a uma distância de 10 cm da linha e, (2) inoculação com *Azospirillum brasilense* estirpe AbV5 e AbV6, em concentração 5 x 10⁸ células mL⁻¹ via solo, na dose de 600 mL ha⁻¹ recomendada pelo fabricante (Qualyfix Gramineas[®]). Após a aplicação dos dois fornecimentos de N, houve suplementação hídrica por meio de irrigação por aspersão convencional. Quando necessário, as plantas foram irrigadas por aspersão e receberam tratamento fitossanitário de acordo com as recomendações para a cultura (EMBRAPA, 2015).

Foi avaliado o ciclo vegetativo, em dias, até o florescimento masculino

(FM) e feminino (FF) das plantas. Considerou-se como ciclo o momento em que 50% das plantas da parcela apresentavam as inflorescências em estado de antese e estilo-estigmas visíveis, respectivamente.

A altura de plantas (AP) e de inserção de espigas (AE) foi realizada pela distância da superfície do solo até a inserção da folha-bandeira e da espiga principal, respectivamente. Essas medidas foram realizadas com auxílio de uma régua graduada, avaliando-se seis plantas por parcela, com os resultados expressos em metros.

A taxa de acamamento (AC) e de quebraamento (QUE) foi realizada pelo número de plantas com inclinação superior a 45° e pela contagem do número de plantas com o colmo quebrado abaixo da espiga principal, respectivamente. Para essas variáveis, os dados obtidos foram transformados para $\sqrt{x+1}$, visando a normalidade dos dados, sendo posteriormente convertidos em porcentagem.

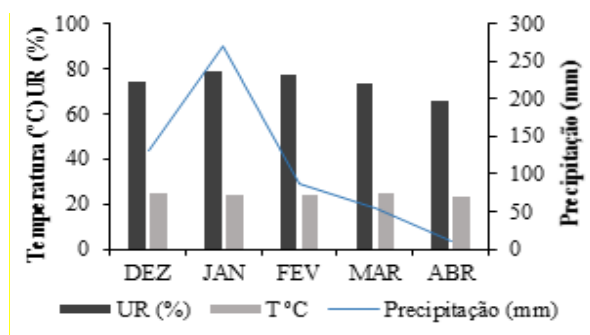
A produtividade de grãos (PG) foi obtida por meio da debulha das

espigas colhidas na área útil de cada parcela, seguido pela pesagem dos grãos e correção da umidade para 13%, convertidos para toneladas por hectare ($t\ ha^{-1}$).

Durante a condução do experimento, a temperatura média foi

de 24,22 °C, com precipitação total de 111,02 mm e umidade relativa média de 74,02% (Figura 1). A semeadura foi realizada em 04/12/2017 e a colheita foi realizada manualmente em 09/04/2018, aos 126 dias após emergência (DAE).

Figura 1. Dados climáticos mensais durante o período experimental da primeira safra 2017/2018. UR: umidade relativa; T °C: Temperatura



Fonte: Elaborado pelo autor

Os dados foram submetidos à análises exploratórias multivariadas por agrupamento hierárquico, pelo método de Ward's, e por componentes principais (CP), com intuito de identificar características individuais de cada genótipo, formando grupos específicos (HAIR et al., 2009).

Os resultados da análise de agrupamento hierárquico foram representados por gráficos dendogramas, explorando as

combinações através de níveis hierárquicos de similaridade existentes e definindo-os em grupos específicos, de acordo com o critério proposto por Ward's. Para a análise de CP, foi realizada seleção dos componentes que apresentavam autovalores acima de 1,00, de acordo com critério proposto por Kaiser (1958), e os resultados foram representados em gráficos *biplots*.

Pela análise de componentes principais, foi possível plotar gráficos

biplots de espacialização das variáveis e das cultivares em duas dimensões. Nos gráficos, foram plotadas elipses que abrangeram os valores dos eixos X e Y variando entre -1,96 a 1,96. Esses valores se referem ao valor Z da distribuição normal, em que, valores menores do que -1,96 e superiores a 1,96 indicam pontos com características específicas a 5% de probabilidade. Assim, foi possível identificar as cultivares com características específicas para cada ano agrícola, conforme realizado por Vianna et al. (2013).

Para as análises exploratórias multivariadas utilizou-se o software Statistica 7.0 (STATSOFT, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de componentes principais (CP), foi avaliada a distribuição dos genótipos para cada fornecimento de N. Para a adubação nitrogenada de cobertura, os dois primeiros CPs explicaram 66,54% da variabilidade original dos dados (39,55% em CP1 e 26,99% em CP2) (Figura 2). Para a inoculação de *Azospirillum brasilense*, foram

explicados 70,67% da variabilidade original dos dados (44,65% em CP1 e 26,02% em CP2) (Figura 3).

Salienta-se que na análise de componentes principais, quanto maior o vetor da variável, maior é a influência da variável na discriminação dos genótipos dentro de cada componente principal e, quanto mais agrupadas as variáveis, maior é a correlação direta entre elas. Assim, verificou-se que as variáveis PG, FM, FF, QUE e AC estão mais relacionadas ao CP1, enquanto as variáveis AE e AP estão mais correlacionadas ao CP2. Observou-se no CP1 que as variáveis FM, FF, QUE e AC estão diretamente correlacionadas e indiretamente com PG. No CP2 as variáveis AE e AP estão diretamente correlacionadas.

Pelo gráfico *biplot* para o fornecimento de adubação nitrogenada em cobertura (Figura 2), observou-se que os genótipos 6, 9 e 13 foram discriminados pelas variáveis produtividade de grãos, altura de plantas e altura de espigas. Como esses genótipos estão fora da elipse (-1,96 a 1,96) construída pelo conjunto original

dos dados, ao nível de 5% de probabilidade, observou-se que são genótipos com características específicas e que apresentam os maiores valores pelas variáveis que foram discriminados, ou seja, maior PG, AP e AE. Dentre os três, verificou-se que o genótipo 9 apresentou a maior produtividade de grãos, além de exibir valores elevados para a inserção de espiga e altura de plantas. Em contrapartida, esse genótipo, juntamente com os demais fora da elipse (13 e 6), apresentou as menores taxas de plantas acamadas e quebradas.

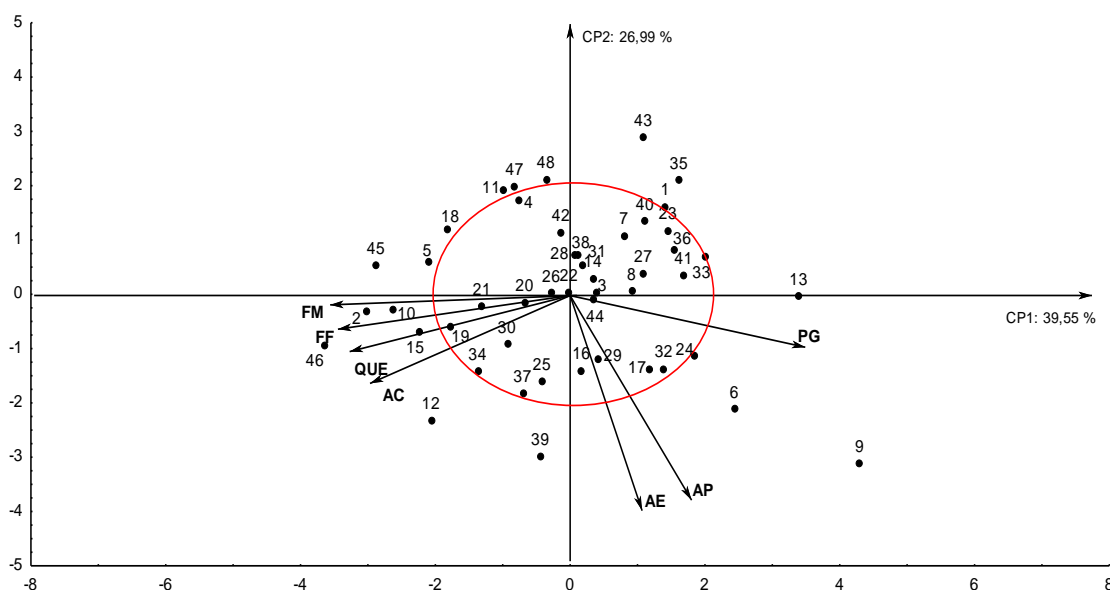
Observou-se que os genótipos 39, 35 e 43 também se apresentaram localizados fora da elipse. Entretanto, esses genótipos estão com maior separação pelo CP2, sendo mais interferidos pelas variáveis AE e AP. Portanto, evidencia-se que os genótipos 43 e 35 estão localizados inversamente a essas variáveis, apresentando os menores valores de AE e AP em relação aos demais. Em contrapartida, o genótipo 39 está localizado diretamente com essas variáveis, apresentando maiores

valores de AE e AP.

No lado negativo do eixo X da Figura 2, nota-se dois agrupamentos de genótipos fora da elipse, indicando uma possível correção entre eles. Um grupo foi formado pelos genótipos 2, 10, 12, 15, 45 e 46, apresentando as menores produtividades de grãos, com florescimento masculino e feminino tardios, sendo correlacionados com alto índice de plantas acamadas e quebradas. E um segundo grupo no mesmo sentido negativo exibido pelas variáveis do grupo anterior, caracterizado pelos genótipos 4, 5, 11, 18, 47 e 48. A similaridade desses grupos foi confirmada através da análise de agrupamento pelo método de Ward's (Figura 4), demonstrando a correlação dos genótipos quanto às variáveis analisadas.

Assim como para o manejo de adubação nitrogenada em cobertura no milho, verificou-se que, para o gráfico *biplot* do manejo de inoculação via solo de *A. brasilense*, as variáveis PG, FM, FF, QUE e AC foram mais relacionadas ao CP1, enquanto as variáveis AE e AP foram mais correlacionadas ao CP2.

Figura 2. Distribuição das variáveis e genótipos sob adubação nitrogenada de cobertura utilizando análise de componentes principais. CP: componente principal; FM: florescimento masculino; FF: florescimento feminino; QUE: taxa de quebramento de plantas; AC: taxa de acamamento de plantas; AE: altura de espiga; AP: altura de plantas; PG: produtividade de grãos



Fonte: Elaborado pelo autor

No gráfico *biplot* para a inoculação via solo de *A. brasilense* (Figura 3), é visto no lado positivo do eixo X que os genótipos 9 e 17 foram os que mais se destacaram, seguido pelo genótipo 6, sendo caracterizados pelas variáveis PG, AP e AE.

Ainda, observa-se que o genótipo 9, que se destacou para a adubação nitrogenada de cobertura (Figura 2), com os melhores índices de produtividade, altura de plantas e

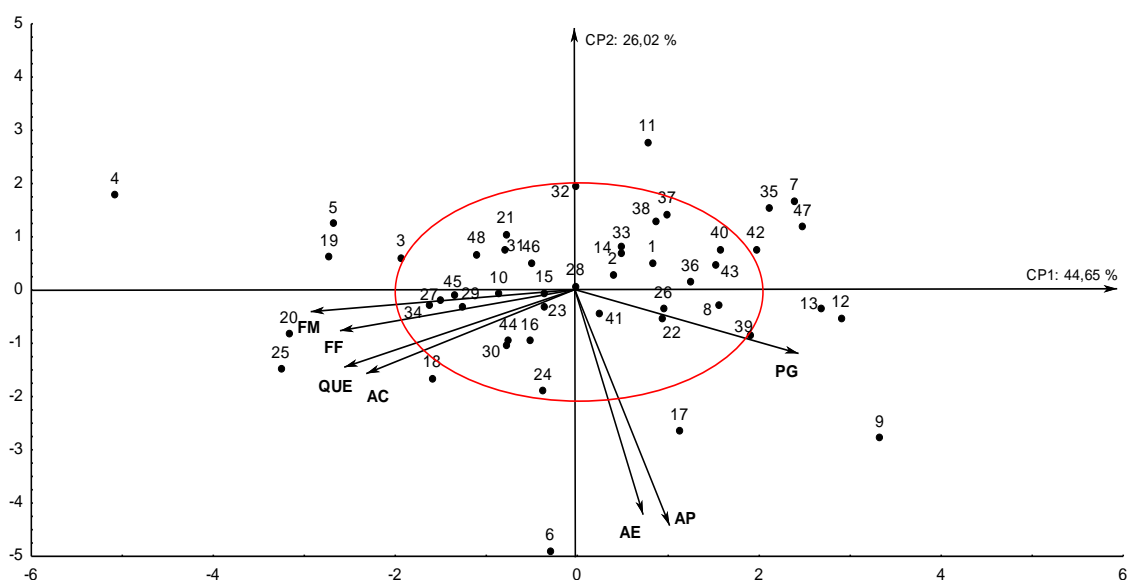
altura de espigas, também se destacou para a inoculação via solo de *A. brasilense*.

Pesquisas indicam que a inoculação com a bactéria diazotrófica pode ocasionar mudanças fisiológicas, refletindo em benefícios como maior e melhor absorção de água e nutrientes, auxiliando no controle de fitopatógenos e no crescimento vegetativo das plantas (MOREIRA; ARAÚJO, 2011). A associação entre a

bactéria e genótipos responsivos pode corresponder em melhor desempenho agrônômico pelas plantas, podendo

resultar no aumento de produtividade (HUNGRIA et al., 2010; BRACCINI et al., 2012; ZEFFA et al., 2019).

Figura 3. Distribuição das variáveis e genótipos sob inoculação com *Azospirillum brasilense* utilizando análise de componentes principais. CP: componente principal; FM: florescimento masculino; FF: florescimento feminino; QUE: taxa de quebramento de plantas; AC: taxa de acamamento de plantas; AE: altura de espiga; AP: altura de plantas; PG: produtividade de grãos



Fonte: Elaborado pelo autor

Os genótipos 7, 12, 13, 35, 42 e 47 constituíram um grupo no qual as variáveis se correlacionaram, apresentando elevada produtividade de grãos, baixos índices de plantas acamadas e quebradas e florescimento masculino e feminino precoce, porém com altura de plantas e altura de

espigas abaixo da média. No lado direito superior da Figura 3, é visto que o genótipo 11 foi influenciado pelo florescimento masculino e feminino ainda mais precoce, com baixa altura de plantas e inserção de espigas, apresentando índices acima da média para acamamento e quebramento de

plantas, afetando diretamente em baixa produtividade de grãos em relação aos genótipos supracitados.

No lado negativo do eixo X do gráfico *biplot* (Figura 3), um novo grupo formado pelos genótipos 4, 5, 18, 19, 20 e 25 foram caracterizados no sentido contrário dos demais genótipos quando utilizado a inoculação com *A. brasilense*, sendo possivelmente os genótipos que expressaram as menores respostas quanto a inoculação com a bactéria diazotrófica. Esse grupo é representado pelas menores produtividades, altura de plantas e altura de espigas baixas, florescimento masculino e feminino mais tardios e os maiores índices de acamamento e quebraimento de plantas. Segundo Reis Junior et al. (2000), a resposta apresentada por genótipos inoculados com *A. brasilense* pode ser heterogênea frente às distintas formas de aplicação de inoculantes, bem como o efeito diferencial de cada genótipo.

A partir da matriz de dissimilaridade com as distâncias genéticas existentes

entre os 48 genótipos de milho avaliados, foi aplicado o método de agrupamento hierárquico de Ward's para ambos os fornecimentos de nitrogênio, sendo demonstrado através de dendrogramas para a adubação nitrogenada de cobertura (Figura 4) e para a inoculação via solo com *A. brasilense* (Figura 5). Em geral, os genótipos foram divididos em quatro grupos, selecionando-os através do ponto de corte adotado, denominados como Grupo 1, Grupo 2, Grupo 3 e Grupo 4.

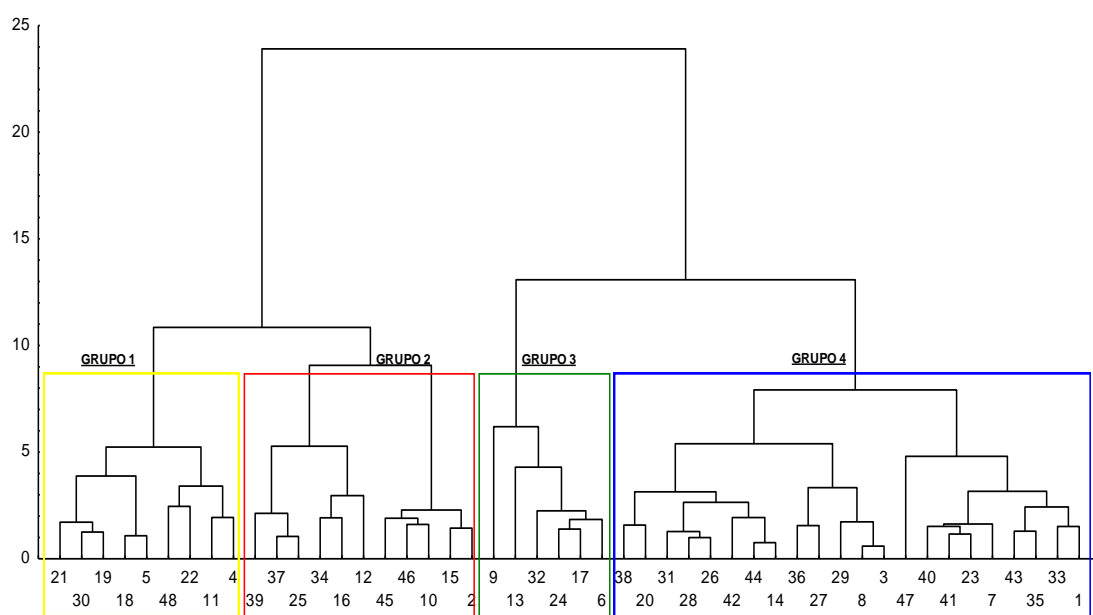
Observando o agrupamento dos genótipos pelo método de Ward's submetidos a adubação nitrogenada (Figura 4), é visto os quatro grupos distintos entre si, assim como a similaridade entre os genótipos dentro de cada grupo. O grupo 3, composto por seis genótipos, representou os melhores índices de produtividade, com AP e AE elevadas, com as menores taxas de plantas acamadas e quebradas.

O grupo 2, formado por onze genótipos, foi caracterizado pelas menores produtividades, florescimento

masculino e feminino tardios e alto índice de plantas acamadas e quebradas. Os grupos 1 e 4, formados por nove e vinte e dois genótipos cada, respectivamente, foram classificados sem propriedades específicas ou medianos frente as variáveis analisadas. Isso confirma a variabilidade genética

existente entre os grupos e entre os genótipos quanto a associação do uso de adubação nitrogenada de cobertura na cultura do milho, auxiliando na tomada de decisões e seleção em programas de melhoramento.

Figura 4. Análise de agrupamento para os genótipos de milho sob adubação nitrogenada de cobertura.



Fonte: Elaborado pelo autor

Seguindo os mesmos critérios que no manejo da adubação nitrogenada de cobertura, o agrupamento realizado com a inoculação via solo de *A. brasilense* (Figura 5) foi semelhante ao ponto de corte e à distribuição

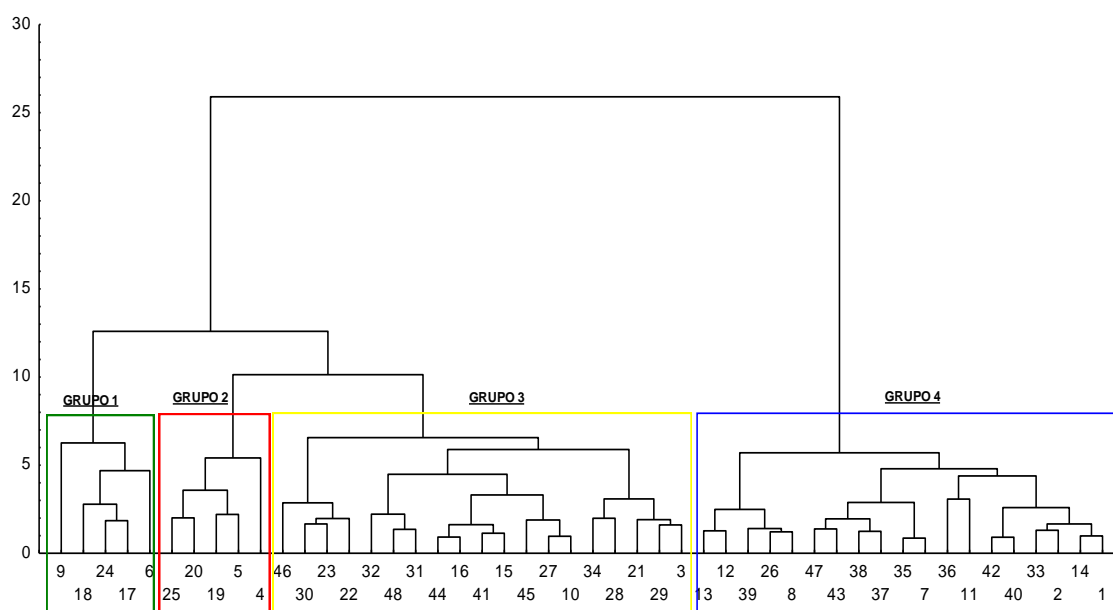
dentro dos quatro grupos. O grupo 1, formado por cinco genótipos, foi caracterizado pelas variáveis altura de plantas e altura de espigas elevadas, menores índices de plantas acamadas e quebradas e, conseqüentemente, as

maiores produtividades. O grupo 2, integrado por cinco genótipos, se caracterizou como o menos responsivos à bactéria diazotrófica, apresentando as menores produtividades entre os demais genótipos, florescimento masculino e feminino ainda mais tardios, altura de plantas e inserção de espigas baixas e os maiores índices de acamamento e quebraamento de plantas.

Os grupos 3 e 4, formados por dezenove genótipos cada, foram

caracterizados como medianos perante às variáveis analisadas, indo de encontro com os genótipos encontrados dentro da elipse (-1,96 a 1,96) na distribuição dos *biplots* (Figura 2 e 3), considerados sem propriedades específicas. Isso demonstra a homogeneidade entre os genótipos dentro de cada grupo e a heterogeneidade entre os grupos formados, em ambos fornecimentos de nitrogênio, sendo a resposta variável para cada genótipo.

Figura 5. Análise de agrupamento para os genótipos de milho sob inoculação com *Azospirillum brasilense*.



Fonte: Elaborado pelo autor

Esses resultados são semelhantes aos observados por Campos et al. (2010), Simon et al. (2012); Lopes et al. (2014) e Rosa et al. (2020), em que com o auxílio de análises multivariadas, foi possível caracterizar, selecionar e formar grupos heterogêneos específicos de interesse. Isso demonstra a capacidade desse tipo de análise como uma ferramenta adicional na avaliação e seleção em programas de melhoramento de plantas, para a eficiência no fornecimento de nitrogênio através de ureia em cobertura e/ou inoculação via solo com *A. brasilense*.

A partir das médias das 7 variáveis fenotípicas (Quadro 1) nos grupos gerados pelo método de agrupamento de Ward's, evidencia-se que os grupos 1 e 4 para inoculação via solo com *A. brasilense* e, os grupos 3 e 4 para adubação nitrogenada de cobertura, destacaram-se com o maior número de características de interesse para a eficiência nos diferentes fornecimentos de nitrogênio. No uso da inoculação via solo, o grupo 1 evidenciou maior potencial para produtividade de grãos (1.759 t ha^{-1}), maior altura de plantas e

de espigas (1,86 e 1,06 m, respectivamente) e baixo índice de acamamento (13,98%). O grupo 4 destacou-se com a segunda maior produtividade (1.666 t ha^{-1}), precocidade para o florescimento masculino e feminino (62,11 e 62,82 dias) e menor índice de plantas acamadas (10,31%) e quebradas (11,27%).

No uso da adubação nitrogenada de cobertura, os genótipos do grupo 3 destacaram-se por apresentar maior média para a produtividade de grãos (1.793 t ha^{-1}), maior altura de plantas (1,77 m), altura de espigas (0,98 m) e baixos índices de acamamento e quebração de plantas (10,90 e 13,84%, respectivamente). Os genótipos que completaram o grupo 4 foram descritos pela segunda maior média na produtividade final de grãos (1.316 t ha^{-1}), com índices medianos para florescimentos masculino e feminino (65,70 e 66,23 dias), altura de plantas (1,64 m) e altura de inserção de espigas (0,87 m), destacando-se também por baixo percentual de plantas acamadas e quebradas (13,73 e 16,08%) (Tabela 1).

Quadro 1. Dados descritivos dos grupos formados pela análise multivariada de agrupamento hierárquico dos genótipos de milho em função da adubação nitrogenada em cobertura e inoculação com *Azospirillum brasilense*.

Adubação nitrogenada de cobertura							
Grupos	PG kg ha ⁻¹	FM -----dias-----	FF -----	AP -----m-----	AE -----	AC -----%	QUE -----
1	1.158	68,17	68,83	1,57	0,87	16,7	18,3
2	1.111	68,05	68,59	1,72	0,96	19,2	27,2
3	1.793	65,67	65,17	1,77	0,98	10,9	13,8
4	1.316	65,70	66,23	1,64	0,87	13,7	16,1
Inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i>							
1	1.759	64,5	64,2	1,86	1,06	14	19,6
2	1.141	67,6	68,2	1,59	0,86	17,4	24,6
3	1.450	65,5	64,9	1,65	0,91	14,4	15,8
4	1.666	62,1	62,8	1,65	0,9	10,3	11,3

FM: florescimento masculino; FF: florescimento feminino; QUE: taxa de quebraamento de plantas; AC: taxa de acamamento de plantas; AE: altura de espiga; AP: altura de plantas; PG: produtividade de grãos
Fonte: Elaborado pelo autor

Os valores de produtividade média e a formação de grupos heterogêneos obtidos no presente estudo foram semelhantes ao observado na pesquisa de Moro et al. (2007) avaliando 64 linhagens de milho. Os autores analisaram a dissimilaridade genética entre as linhagens, caracterizando, selecionando e formando grupos específicos de interesse, observando as maiores produtividades em 2,39 t ha⁻¹ e 1,66 t ha⁻¹ e média geral de 1,41 t ha⁻¹. Além disso, os valores médios das outras variáveis relacionadas à fenologia (FF e FM) e ao crescimento das

linhagens (AP e AE) foram semelhantes ao observado por Azad et al. (2012), com avaliação de desempenho agrônômico de linhagens de milho. Ainda, Azad et al. (2012) observaram elevadas variações das variáveis de crescimento do milho em relação aos grupos formados pelas linhagens de milho.

Avaliando a percentagem de plantas quebradas e acamadas em 36 genótipos de milho, Silva et al. (2012) observaram valores variando entre 8 e 16%. Esses valores são semelhantes ao observado no presente estudo entre os

grupos com maior e menor taxa de acamamento e quebramento.

Resultados semelhantes com o uso de técnicas exploratórias multivariadas foram obtidos durante avaliações fenotípicas de genótipos de milho por Rotili et al. (2012), Alves et al. (2014) e Rigon et al. (2015), em cana-de-açúcar por Lopes et al. (2014) e em feijão-caupi por Santos et al. (2015), confirmando a eficiência e praticidade do método na caracterização, identificação, seleção e agrupamentos específicos de genótipos superiores e contrastantes, perante a ampla diversidade genética existente.

Durante novos processos de recombinação de genótipos de milho, Hallauer e Miranda Filho (1995) destacam a necessidade de se priorizar a seleção de genótipos que apresentem elevadas médias fenotípicas e que se divergem para as características específicas de interesse. Entre grupos de genótipos que apresenta produção intermediária e ampla diversidade genética e outros que apontam grande potencial produtivo e pequena diversidade genética, os autores realçam e sugerem que a segunda

opção se prevaleça durante o processo de seleção.

As metodologias utilizadas neste trabalho para a formação de grupos específicos de interesse e distribuição perante o comportamento dos genótipos aos diferentes fornecimentos de nitrogênio, através de análises multivariadas, foram eficientes na identificação de grupos de genótipos superiores e contrastantes quanto as características fenotípicas de interesse para seleção dos que se apresentaram responsivos.

Os resultados apresentados poderão nortear pesquisadores para maior direcionamento como base para novas pesquisas que envolva o estudo do comportamento fenotípico de genótipos na resposta a diferentes fornecimentos de nitrogênio, em que após ciclos de avaliação, seleção e recombinação, espera-se obter novas linhagens de milho com maior frequência de alelos favoráveis, principalmente na resposta do uso a inoculação com *A. brasilense*, introduzindo-as em programas de melhoramento.

CONCLUSÃO

Os métodos exploratórios de dados são eficientes na caracterização, seleção e agrupamento de genótipos superiores e contrastantes a partir de características fenotípicas do milho cultivado sob adubação nitrogenada de cobertura e inoculação com *Azospirillum brasilense*. Os genótipos mais produtivos e divergentes podem ser recombinados em novas etapas de cruzamentos e seleção visando à obtenção de genótipos mais produtivos, responsivos a inoculação com a bactéria diazotrófica e com elevada variabilidade genética.

AGRADECIMENTOS

O estudo foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - sob o código de financiamento 001. Os autores também agradecem à Universidade Estadual Paulista (UNESP) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

ALVES, B.M.; CARGNELUTTI FILHO, A.; DA SILVA, L.P.; TOEBE, M.; BURIN, C.; PRETTO, A. Análise de agrupamento

em cultivares superprecoce de milho em relação à produtividade de grãos e à qualidade proteica. **Revista da Estatística da Universidade Federal de Ouro Preto**, v.3, n.3, p.94-98, 2014.

AZAD, M.A.K.; BISWAS, B.K.; ALAM, N.; ALAM, S.S. Genetic diversity in maize (*Zea mays* L.) inbred lines. **The Agriculturists**, v.10, n.1, p.64-70, 2012.

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

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

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

CAMPOS, A.; ZACARIAS, A.; COSTA, D.; NEVES, L.; BARELLI, M.; SOBRINHO, S.; LUZ, P. Avaliação de acessos de mandioca do banco de germoplasma da UNEMAT Cáceres Mato Grosso. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.4, n.2, p.44-54, 2010.

CARMO, M.S.; CRUZ, S.C.S.; SOUZA, E.J.; CAMPOS, L.F.; MACHADO, C.G. Doses e fontes de nitrogênio e produtividade da cultura de milho doce. *Bioscience Journal*, v.28, s.1, p.223-231, 2012.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v.6, safra 2018/19, n.11, agosto 2019. Disponível em: <https://www.conab.gov.br /info-agro/safra/safraos>. Acesso em: 08 set. 2019.

CURÁ, J.A.; FRANZ, D.R.; FILOSOFÍA, J.E.; BALESTRASSE, K.B.; BURGUEÑO, L.E. Inoculation with *Azospirillum* sp. and *Herbaspirillum* sp. Bacteria Increases the Tolerance of Maize to Drought Stress. *Microorganisms*. v.5, n.3, p.41, 2017.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3 ed. Brasília, 2013. 353 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Cultivo do milho** (9 ed.). Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Brasil (Sistemas de Produção, 1), 2015.

FARINELLI, R.; LEMOS, L. B. Nitrogênio em cobertura na cultura do milho em preparo convencional e plantio direto consolidados. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.42, n.1, p.63-70, 2012.

FERREIRA, A.S.; PIRES, R.R.; RABELO, P.G.; OLIVEIRA, R.C.; LUZ, J.M.Q.; BRITO, C.H. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the

Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. *Applied Soil Ecology*, v.72, p.103-108, 2013.

GALINDO, F.S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J.M.K.; ALVES, C.J.; NOGUEIRA, L.M.; LUDKIEWICZ, M.G.Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTTE, J.L.M. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.40, 2016.

HAIR JR., J.F.; WILLIAM, B.; BABIN, B.; ANDERSON, R.E. **Análise multivariada de dados**. 6.ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2 ed. Ames: Iowa State University Press, 1995.

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

IMEA. **Custo de produção do milho - Safra 2018/2019**, 2019. Disponível em:

KAISER, H. F. The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. *Psychometrika*, v.23, n.3, p.187-200, 1958.

LOPES, V.R.; FILHO, J.C.B.; DAROS, E.; OLIVEIRA, R.A.; GUERRA, E.P. Divergência genética entre clones de cana-de-açúcar usando análise multivariada associada a modelos mistos. *Semina: Ciências Agrárias*, v.35, n.1, p.125-134, 2014.

- MARINI, D.; GUIMARÃES, V.F.; DARTORA, J.; LANA, M.D.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.
- MOREIRA, A.L.L.; ARAÚJO, F.F. Produção de Fosfatases, enzima ACC desaminase e antagonismo a fitopatógeno por bactérias, 2011. In: Encontro de Ensino, Pesquisa e Extensão. Presidente Prudente. **Anais**, v.7, p.5, 2011.
- MORO, J.R.; SILVEIRA, F. T.; CARGNELUTTI, A. F. Dissimilaridade genética em sessenta e quatro linhagens de milho avaliadas para resistência ao complexo enfezamento. **Revista Biologia e Ciências da Terra**, v.7, n.1, p.153-160, 2007.
- PORTUGAL, J.E.R.; ARF, O.; PERES, A.R.; DE CASTILHO GITTI, D.; RODRIGUES, R.A.F.; GARCIA, N.F.S.; GARDE, L. M. *Azospirillum brasilense* promotes increment in corn production. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n.19, p.1688-1698, 2016.
- REIS JR, F.B.; REIS, V.M.; SILVA, L.G.; DÖBEREINER, J. Levantamento e quantificação de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.5, p.985-994, 2000.
- RIGON, J.P.G.; CAPUANI, S.; RIGON, C.A.G. Genetic divergence among maize hybrids by morphological descriptors. **Bragantia**, v.74, p.156-160, 2015.
- ROSA, T.C.; CARVALHO, I.R.; SILVA, J.A.G.; SZARESKI, V.J.; BARBOSA, M.H.; HOFFMANN, J.F.; MATTER, E.M.; ZIMMERMANN, C.S.; BUBANS, V.E.; SOUZA, V. Q. Mixed models and multivariate approach applied to maize breeding: A useful tool for biofortification. **Australian Journal of Crop Science**, v.14, n.2, p.213-220, 2020.
- ROTILI, E.A.; CANCELLIER, L.L.; DOTTO, M.A.; PELUZIO, J.M.; CARVALHO, E.V. Divergência genética em genótipos de milho, no Estado do Tocantins. **Revista Ciência Agronômica**, v.43, n.3, p.516-521, 2012.
- SANTOS, V.S.D.; MARTINS FILHO, S.; ALVES, R.M.; RESENDE, M.D.V.D. Genetic divergence among cupuaçu accessions by multiscale bootstrap resampling. **Bragantia**, v.74, n.2, p.169-175, 2015.
- SILVA, M.R.D.; MARTIN, T.N.; ORTIZ, S.; BERTONCELLI, P.; VONZ, D. Desempenho agrônômico de genótipos de milho sob condições de restrição hídrica. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, n.1, p.202-212, 2012.
- SILVA, C.G.M.; RESENDE, Á.V.D.; GUTIÉRREZ, A.M.; MOREIRA, S.G.; BORGHI, E.; ALMEIDA, G.O. Macronutrient uptake and export in transgenic corn under two levels of fertilization. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.53, n.12, p.1363-1372, 2018.
- SIMON, G.A.; KAMADA, T.; MOITEIRO, M. Divergência genética em milho de primeira e segunda safra. **Semina. Ciências Agrárias**, v.33, p.449-458, 2012.

SORATTO, R.P.; PEREIRA, M.; COSTA, T.A.M.; LAMPERT, V.N. Fontes alternativas e doses de nitrogênio no milho safrinha em sucessão à soja. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, n.4, p.511-518, 2010.

SOUZA, M.S.; DE BAURA, V.A.; SANTOS, S.A.; FERNANDES-JÚNIOR, P.I.; JUNIOR, F.B.R.; MARQUES, M.R.; DA SILVA BRASIL, M. *Azospirillum* spp. from native forage grasses in Brazilian Pantanal floodplain: biodiversity and plant growth promotion potential. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.33, n.4, p.81-88, 2017.

STATSOFT. **Statistica**: data analysis software system, version 7. Tulsa, 2007.

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

USDA. United States Department of Agriculture. **World Agricultural Production. Circular Series, WAP 8-19**, August 2019. Disponível em: <https://downloads.usda.library.cornell.edu/usdaesmis/files/5q47rn72z/n583z624w/n583z6255/production.pdf>.

VIANNA, V.F.; UNÊDA-TREVISOLI, S.H.; DESIDÉRIO, J.A.; ANTIAGO, S.; CHARNAL, K.; FERREIRA JÚNIOR, J.A.; FERRAUDO, A.S.; DI MAURO, A.O. The multivariate approach and influence of characters in selecting superior soybean genotypes. **African Journal of Agricultural Research**, v.8, n.30, p.4162-4169, 2013.

ZEFFA, D.M.; PERINI, L.J.; SILVA, M.B.; SOUSA, N.V.; SCAPIM, C.A.; OLIVEIRA,

A.L.M.D.; AMARAL JÚNIOR, T.; AZEREDO GONCALVES, L.S. *Azospirillum brasilense* promotes increases in growth and nitrogen use efficiency of maize genotypes. **PLoS One**, V.14, N.4, e0215332, 2019.