

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS – UniEVANGÉLICA**  
**CURSO DE AGRONOMIA**

**EMERGÊNCIA E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE MILHO**  
**INOCULADO COM *Azospirillum brasilense***

**Geovana Monteiro Rodrigues**

**ANÁPOLIS-GO**  
**2020**

**GEOVANA MONTEIRO RODRIGUES**

**EMERGÊNCIA E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE MILHO  
INOCULADO COM *Azospirillum brasilense***

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro Universitário de Anápolis-UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

**Área de concentração:** Fitotecnia

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Claudia Fabiana Alves Rezende.

**ANÁPOLIS-GO  
2020**

Rodrigues, Geovana Monteiro

Emergência e desenvolvimento inicial do milho inoculado com *Azospirillum brasilense*  
Geovana Monteiro Rodrigues. – Anápolis: Centro Universitário de Anápolis –  
UniEVANGÉLICA, 2020.  
29p.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Claudia Fabiana Alves Rezende  
Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Agronomia – Centro Universitário de Anápolis  
– UniEVANGÉLICA, 2020.

1. Bactéria diazotrófica. 2. *Zea Mays*. 3. Taxa de germinação I. Geovana Monteiro Rodrigues.  
II. Emergência e desenvolvimento inicial do milho inoculado com *Azospirillum brasilense*.

CDU 504

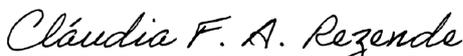
**GEOVANA MONTEIRO RODRIGUES**

**EMERGÊNCIA E DESENVOLVIMENTO INICIAL DO MILHO INOCULADO  
COM *Azospirillum brasilense***

Monografia apresentada ao Centro  
Universitário de Anápolis –  
UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de  
Bacharel em Agronomia.  
**Área de concentração:** Fitotecnia

Aprovada em: 15 de Dezembro de 2020

Banca examinadora

  
Prof.<sup>ª</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Claudia Fabiana Alves Rezende  
UniEvangélica  
Presidente

  
Prof. Dr. Alan Carlos Alves de Souza  
UniEvangélica

  
Assinatura do Examinador  
Esp. Jordana Alves da Silva Melo  
Membro Externo

Dedico esse trabalho aos meus  
pais Rildo Coelho Rodrigues e  
Maria José Monteiro Rodrigues.

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a Deus, por cada vitória ao longo desse percurso e também as derrotas, as quais me serviram de aprendizado, pela saúde e força para superar as dificuldades.

Aos meus pais, Rildo Coelho Rodrigues e Maria José Monteiro Rodrigues, a quem os devo a vida e todas as oportunidades que nela tive, por todo amor, dedicação, incentivo e apoio incondicional.

Agradeço a minha mãe, que me deu apoio, carinho e pelas vezes que esteve comigo quando eu mais precisei.

Ao meu pai, pelo incentivo e apesar de todas as dificuldades sempre valorizou a minha educação.

Ao meu irmão, Jean Ricardo M. Rodrigues que é pra mim uma inspiração pessoal e profissional.

Ao meu namorado Marcos Antônio Bento, meu maior companheiro, por todo carinho, suporte e paciência que tornou os meus dias mais felizes e tranquilos.

A minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Claudia Fabiana A. Rezende pelos anos de convivência, pela orientação, paciência e dedicação.

Ao professor, Lucas M. Nascimento pelo amparo, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiaram o meu aprendizado.

Aos funcionários da área experimental da Emater de moda geral que sempre me ajudou e se colocou a minha disposição.

A todos que de alguma forma, contribuíram, para realização desta conquista.

“Por isso não tema, pois estou com você; não tenha medo pois sou o seu Deus. Eu o fortalecerei e o ajudarei; eu o segurarei com a minha mão direita vitoriosa”.

Isaías 41:10.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>vii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>10</b>
2.1. ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO MILHO .....	10
2.2. INOCULAÇÃO NO MILHO.....	11
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>15</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>22</b>

## RESUMO

Bactéria diazotrófica do gênero *Azospirillum* promovem o crescimento vegetal de gramíneas como milho, através do aumento da superfície de absorção das raízes, produção de fitohormônios e fixação biológica de nitrogênio. Este trabalho teve como objetivo avaliar a inoculação *Azospirillum brasilense* e seus efeitos sobre a germinação de semente e desenvolvimento inicial de plântulas de milho. O estudo foi desenvolvido na estação experimental da Emater, no município de Anápolis, GO. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados 3x2, sendo três variedades, dois tratamentos e cinco repetições, consistentes nos híbridos KWS 8774 PRO3 (transgênico); ADV 9860 PRO2 (transgênico) e a cultivar bandeirantes (sem transgenia) e a inoculação com *Azospirillum brasilense* estirpe AbV5 e AbV6. As unidades experimentais foram constituídas de vasos plásticos, as quais foram divididos em doze parcelas experimentais. Avaliou-se porcentagem de emergência, índice de velocidade de emergência, tempo médio de germinação, velocidade média de emergência, massa fresca e seca das plantas, massa fresca e seca da raiz, comprimento de raiz e planta e diâmetro do caule. Os dados coletados foram tabulados e submetidos à análise de variância ANOVA e a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade realizada pelo software SISVAR®. A inoculação com *Azospirillum brasilense* apresenta eficiência frente aos híbridos de milho utilizado. Sendo que a presença de diferentes tecnologias da semente não teve influência decisiva sobre o desenvolvimento inicial da planta frente a inoculação. Para o plantio no mês de julho a inoculação influenciou o desempenho nos parâmetros de comprimento de raiz, altura de plantas, diâmetro de colmo e massa seca de raiz. Para o plantio no mês de agosto a inoculação influenciou o desempenho de comprimento de raiz, diâmetro de colmo, massa seca de raiz e parte aérea. As variações observadas com a inoculação *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento inicial do milho devem ser melhor estudadas para a sua elucidação.

**Palavras-chave:** Bactéria diazotrófica, *Zea Mays*, taxa de germinação.

## 1. INTRODUÇÃO

O milho é uma gramínea conhecida como uma das de maior importância mundial, propiciado pela a versatilidade de sua utilização. É um alimento de grande valor energético e de custo parcialmente baixo (MÔRO et al., 2015). Em consequência da posição geográfica e condições climáticas do Brasil, o milho é capaz de ser cultivado em dois períodos por ano, chamados de primeira e segunda safra (ANDREA et al., 2018). A produção na segunda safra recebeu inicialmente a denominação de ‘safrinha’, devido condições pouco favoráveis, principalmente devido à disponibilidade hídrica, no período de cultivo após a colheita da safra de verão, geralmente explorada com a cultura da soja (SIMÃO, 2016).

Com passar dos anos, o milho atingiu o nível de maior cultura agrícola do mundo, tornando-se a única a alcançar a marca de 1 bilhão t, ultrapassando o arroz e o trigo. Simultaneamente a sua importância em produção, a cultura ainda se destaca por apresentar diversos usos. Além da grande importância no aspecto da segurança alimentar, alimentação humana e, especialmente animal, é capaz de produzir com o milho uma imensidão de produtos, como combustíveis, bebidas e polímeros (MIRANDA, 2018). A partir da safra 2013/14, a produção na segunda safra, com os avanços tecnológicos e ajustes no período de cultivo, reúne uma oferta de 58,2% do produto (BARROS et al., 2015).

A grande demanda mundial por alimentos e seus derivados faz-se da cultura do milho objetivo de muitos estudos visando o alcance de elevados níveis de produtividade (CHAGAS et al., 2018). Dessa maneira, a estimativa da produção de milho nacional, levando em conta primeira, segunda e terceira safras, na temporada 2019/20, apresentará crescimento de 0,4% contraposto a 2018/19, com uma produção de 100,5 milhões t (CONAB, 2020).

Em questão de adubação, a cultura do milho está entre as que mais exigem fertilizantes, os nitrogenados principalmente, representando um fator limitante a produtividade quanto na sua ausência (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2017). O nitrogênio (N) é o nutriente mais importante para cultura do milho, sendo absorvido em alta quantidade pela planta (CAIRES et al., 2016).

No entanto, cada vez mais há buscas e estudos sobre alternativas biológicas para auxiliar no suprimento de N, como por exemplo, o uso de inoculante com bactérias do gênero *Azospirillum*. Estas quando associadas à rizosfera das raízes das plantas de milho podem contribuir com a nutrição nitrogenada. Além de possuírem a capacidade de fixar o N biologicamente, tem aptidão para a produção de hormônios vegetais, atuando no

desenvolvimento radicular das plantas (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2017). O que leva, consequentemente a ampliação da produtividade, ou seja, esta união é capaz de resultar em ganhos de produção e diminuição dos custos (CICILATO et al., 2015).

Segundo Dartora et al. (2013), em avaliação de germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo, atribuíram maior porcentagem de germinação, maior vigor, melhor desenvolvimento inicial das plântulas e maior desenvolvimento radicular à produção de fito hormônios por *A. brasilense*.

Fukami et al. (2016) analisaram que a inoculação com grandes doses de *Azospirillum brasilense*, inibiram o crescimento de plantas de milho e trigo, resultado da abundância bacteriana no sistema radicular, que pode ter otimizado a secreção de tais hormônios e comprometido o crescimento das raízes. De acordo com Silveira et al. (2016), a inoculação com *A. brasilense* possibilita o crescimento das raízes de trigo, pela capacidade das mesmas em sintetizar ácido indolacético e fixar nitrogênio.

Segundo Pies et al. (2017), a inoculação da cevada com *Azospirillum brasilense* aumentou o perfilhamento e o comprimento radicular da cultura. O aumento das populações da daninha diminuíram; a altura, o perfilhamento, teor de clorofila das folhas, comprimento, volume e massa seca das raízes da cevada. A inoculação da cevada com *Azospirillum brasilense* não favoreceu, de maneira perceptível, na competitividade da cevada.

Em trabalho realizado por Libório et al. (2016), as plantas apresentaram maior produção de matéria seca de raízes quando inoculadas comparadas a plantas não inoculadas. Foi verificado também que, dependendo do parâmetro analisado, ocorre que a metade da dose de nitrogênio recomendada para a cultura se completar com a inoculação a base de *Azospirillum brasilense*, terá os mesmos a quando adicionar o dobro da carga na cultura. Esses resultados, produzem benefícios econômicos e ambientais, pois com o uso de menores doses de N teremos menor gasto e diminuição da poluição ambiental causada por fertilizantes por lixiviação e volatilização.

Diante do exposto, objetivou-se com esse trabalho avaliar a germinação de sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas de milho inoculadas com *Azospirillum brasilense*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L.) é uma monocotiledônea que pertence à família das Poaceae, gênero *Zea* e cientificamente, originado nas Américas, supostamente no México e América central. Após a descoberta o milho foi introduzido na Europa onde tornou-se conhecido e obteve o caráter alimentício (OKUMURA et al., 2011).

É uma gramínea com alta eficiência para armazenar energia, acontecendo pela facilidade que a planta tem em acumular fotoassimilados. É uma cultura anual de 110 a 180 dias de acordo com o híbrido para condições brasileiras e de alto rendimento (FORNASIERI FILHO, 2007).

A cultura do milho é de grande importância social e econômica correspondente ao valor nutricional, fornecendo produtos para a alimentação humana, animal e produção de etanol (CONAB, 2018). Ocupando a posição de segunda maior produção de grãos (98.409,3 mil t) no ano de 2019, encontrando-se o estado de Goiás responsável pela produção de 10.884,9 mil toneladas deste montante. Contudo, a produção de milho no estado se divide em duas épocas, primeira safra/safra com uma produção 2.312,6 mil t e segunda safra/safrinha constatada a produção de 8.572,3 mil t (CONAB, 2019).

O 3º lugar no ranking em produção mundial encontra-se o Brasil (101,0 milhões t), na safra 2019/20 localizando-se abaixo apenas dos Estados Unidos e da China, em compensação o Brasil tornou-se o segundo maior exportador mundial do cereal (36 milhões t), há 10 anos, o país possuía apenas 1% do mercado mundial e no ano de 2019 é responsável por cerca de 25% do total global das vendas do milho (FAO, 2019). Além da importância econômica há a contribuição social da espécie, na agricultura familiar é de grande importância na subsistência, sendo consumido diariamente em pequenas propriedades agrícolas (MÔRO et al., 2015).

A utilização do milho é ampla, enquadrando seu emprego como alimento, assim como seu uso industrial e energético; seu destino é, principalmente, a produção de rações para uso animal (SOLOGUREN et al., 2015) devido à sua composição predominantemente de carboidratos (amido) e lipídeos (óleo), fontes de fibras, principalmente do tipo insolúveis (hemicelulose, celulose e lignina), que correspondem à fração fibra em detergente neutra nas avaliações para alimentação animal (PAES et al., 2006).

O milho no Brasil é cultivado em duas safras, 1º safra e 2º safra (conhecida como safrinha). No Centro-Oeste a segunda safra é responsável por 60% da produção nacional, enquanto a primeira safra representa 40% (DEPEC, 2017). O plantio da segunda safra acontece

após a colheita da soja, permitindo uma maior produtividade devido ao aproveitamento de resíduos de fertilizantes no solo nessas áreas de plantio (REIS et al., 2016).

Em comparação do N com as plantas, ele é formado de muitos compostos orgânicos, como aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas, enzimas e clorofilas. E na cultura do milho, o nitrogênio é o nutriente exigido, de maior importância (OLIVEIRA et al., 2013), onde sua deficiência em caso mostram plantas com amarelecimento nas folhas mais velhas, prolongadas por clorose generalizada até perda foliar, apresentando até deformações nas pontas das espigas, causando a diminuição consideravelmente da produtividade do grão (SUBEDI et al., 2009). A absorção do nitrogênio pelo milho consegue ser tanto na forma amoniacal como a nítrica, neste aspecto a idade da planta tem influência. Em estágios iniciais de preferência o íon amônio é utilizado e nos finais o nitrato (DUETE et al., 2009).

## 2.2. INOCULAÇÃO NO MILHO

Uma das maiores limitações à utilização do *Azospirillum* na cultura do milho é a incoerência dos resultados de pesquisa. Essas limitações podem variar de acordo com a cultivar, as condições edafoclimáticas e a metodologia de condução dos ensaios (BARTCHECHEN et al., 2010).

O aumento de produtividade no milho está atrelado ao crescimento da demanda por milho, tanto nacional quanto mundial, destacando-se a necessidade de se diminuir o uso de insumos externos, visto que são grande parte dos custos de produção. Estudos realizados apontam como opção a inoculação de sementes de milho com bactérias diazotróficas, as quais apresentam a capacidade de fixar biologicamente o N (FBN), visto que este é o nutriente mais exigido pela cultura (BULLA et al., 2012).

A FBN é um método de incorporação do N<sub>2</sub> na forma inorgânica conjugada à NH<sub>3</sub>, baseados então, em formas reativas orgânicas e inorgânicas. A reação de redução do N<sub>2</sub> a NH<sub>3</sub> é executada por microrganismos que contém a enzima nitrogenase e são considerados fixadores de N<sub>2</sub> ou diazotróficos (BERGAMASCHI, 2006). Muitas bactérias diazotróficas foram separadas na cultura de milho, sobressaindo as espécies *Azospirillum lipoferum*, *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*, estando as espécies mais analisadas as do gênero *Azospirillum* (REIS et al., 2000).

A bactéria mais estudada no Brasil para cultura do milho é *Azospirillum brasilense*, já que é capaz de oferecer N atmosférico às plantas. A inoculação ocorre por meio de inóculo

ligado com turfa ou inoculante líquido que melhora a fixação nas sementes, processo esse efetuado antes do plantio (DHEIN et al., 2014).

A inoculação com *A. brasilense* além do benefício da FBN, estimula também um maior crescimento da parte aérea e das raízes, por meio da produção de hormônios promotores de crescimento, como as auxinas, citocininas e giberelinas (TAIZ et al., 2013). Além da alta absorção de luz no processo de fotossíntese (REIS JÚNIOR et al., 2008), aumenta também o aproveitamento dos recursos hídricos e nutrientes do solo (BASHAN et al., 2010).

Estudos já apresentaram resultados com inoculação de *A. brasilense* em genótipos de milho, demonstrando acréscimo de 24 a 30% na produtividade de grãos (HUNGRIA et al., 2010). Reis Junior et al. (2008) exibem resultados similares em relação à inoculação da bactéria, não observando efeito na produção de matéria seca da parte aérea, contudo, plantas inoculadas mostram maior produção de matéria seca das raízes em comparação aos tratamentos sem inoculação. No trabalho, as plantas inoculadas com *Azospirillum* mostraram maior conteúdo de N nas raízes, consequência da FBN e mecanismos de promoção de crescimento.

Segundo Andrade et al. (2016), a aplicação foliar do *A. brasilense* gerou significativo incremento de produtividade quando a dose de 100% de N era também utilizada. A bactéria pode ser apontada como uma tecnologia complementar e focalizada para aumento da produtividade do milho certamente devido a metabólitos produzidos. Já a inoculação de sementes com *A. brasilense* associado a adubação com N mineral pode aumentar a matéria seca do milho, do trigo e a produtividade. A diminuição de 50% das doses de N em cobertura, associada à inoculação, não abala o crescimento e rendimento dessas culturas (MUMBACH et al., 2017).

No gênero *Azospirillum* cada cepa interage com a raiz da planta hospedeira de maneira diferente, algumas predominantemente colonizam a superfície da raiz, enquanto outras podem infectar o interior da raiz e, assim, atuar como endófitos, habitando no interior de uma planta pelo menos durante parte da sua vida sem aparentemente causar doença a esta (MISHRA, 2012). Dentro do gênero a espécie *Azospirillum brasilense*, está sendo usada como inoculante em diversas culturas, tais como: milho, sorgo, trigo, arroz, cana-de-açúcar e outras (REIS, 2007).

Na literatura há respostas benéficas da interação entre *Azospirillum* spp. demonstradas com plantas de trigo (HUNGRIA, 2011), milho (QUADROS, 2009), milheto e arroz (PEDRAZA et al., 2009). A variedade de associação entre diferentes espécies de plantas e a bactéria sugere que não há especificidade, mas sim ampla utilização da tecnologia.

As gramíneas evidenciam vantagens quando comparadas as leguminosas. Possuem um sistema radicular fasciculado, apresentando vantagens sobre o sistema pivotante das leguminosas para extrair água e nutrientes do solo, que aliado a outros fatores fisiológicos, proporciona maior atividade fotossintética (C4). Por esse motivo, o interesse na fixação biológica em gramíneas é grande. O N necessário na cultura do milho não é todo fornecido pela associação com a bactéria, a técnica uma forma de suplementação de N para a cultura. Contudo, esta alternativa pode oferecer redução no uso de fertilizantes minerais nitrogenados, e esta economia, pode ser igual ou superior as leguminosas que podem ser autossuficientes em N (DÖBEREINER, 1992).

Geralmente a inoculação com *A. brasilense* promove acréscimo de massa seca, de acúmulo de N nas plantas e produtividade de grãos, principalmente se a relação for entre bactéria e genótipos não melhorados e em circunstâncias de baixa disponibilidade de N (OKON et al., 1997). Além disso, o estado nutricional da planta, a existência de microrganismos competidores, qualidade dos exsudatos, e a escolha da estirpe também são fatores que é capaz de influenciar na interação entre a planta de milho e a bactéria e impactar na eficiência da fixação biológica de N (FBN) (QUADROS, 2009).

Segundo Verona et al. (2010), a inoculação no milho possibilitou maior peso em relação à massa seca de parte aérea mesmo em estresse hídrico e maior diâmetro de caule. Sabe-se que além das folhas, grande parte das reservas desenvolvidas pela planta são armazenadas nos colmos, fazendo com que esta relação de maior massa de parte aérea e maior diâmetro de caule gerem melhores condições de armazenagem e uma possível maior produção final, já que essas reservas são indispensáveis para um desenvolvimento adequado da planta, especialmente na fase reprodutiva, para suprir os drenos representados pelas espigas.

A inoculação de *Azospirillum* em milho cresceu o teor relativo de clorofila e o rendimento da matéria seca da parte aérea dos híbridos AS 1575 e SHS 5050, o peso de 1000 grãos do híbrido P32R48 e a altura de planta do híbrido AS 1575. As bactérias inoculadas continuaram em quantidade viável nas raízes até o final do ciclo do milho, determinando uma boa sobrevivência pós-inoculação. Para algumas características agronômicas, a resposta do milho à inoculação depende do híbrido testado (QUADROS et al. 2014).

Com relação a sobrevivência deste microrganismo, tem-se que o *A. brasilense* tem pouca capacidade de sobreviver por períodos prolongados de tempo na maioria dos solos. As condições físico-químicas do solo e a ausência da planta hospedeira podem impactar diretamente a população da bactéria (BASHAN et al., 1995). No entanto, em circunstâncias desfavoráveis essas

bactérias desenvolvem mecanismos de proteção como formação de cistos, produção de poli- $\beta$ hidroxibutirato e de melanina, contribuindo para sua sobrevivência (DEL GALLO et al., 1994).

O inoculante, contendo estirpes de *A. brasilense*, é capaz de ser aplicado no milho em três formas: (I) via inoculação das sementes; (II) no sulco de semeadura; e (III) via foliar. A maioria das pesquisas, no Brasil, tem ocorrido via inoculação das sementes. Devido à incompatibilidade de *A. brasilense* com os produtos químicos frequentemente usados no tratamento de sementes, para contornar este problema, uma possibilidade adotada pelos produtores tem sido a aplicação do inoculante via foliar. De outra forma, pouco se conhece sobre a eficácia agrônômica das ocorrências nas quais este produto, contendo estirpes de *A. brasilense*, é aplicado via folha na cultura do milho (KAPPES et al., 2017)

O tratamento das sementes com defensivos agrícolas realizados na indústria impede a inoculação na semente, mas a aplicação foliar é uma possibilidade para a utilização do *Azospirillum*, além de ser mais prática. Martins et al. (2012) ao compararem a inoculação da semente com a aplicação do *Azospirillum* por via foliar, averiguaram que esta última mostra-se uma ótima opção para utilização em gramíneas, pois coincide com a fase de aplicação de herbicida, favorecendo o manejo para o agricultor e com melhores resultados ou iguais a inoculação na semente.

Resultados parecidos foram relatados por Costa et al. (2015) ao avaliarem a segunda safra de milho, com resultados de aumento de produtividade com inoculação da semente e aplicação foliar. Segundo Kappes et al (2017), a aplicação foliar de *A. brasilense* não proporcionou resultados positivos a cultura do milho pelas condições edafoclimáticas em que trabalho foi realizado.

Na maioria dos casos os benefícios desta bactéria se resumem em produção de hormônios promotores de crescimento e desenvolvimento, antagonismo a agentes patogênicos, associação com várias gramíneas e com não gramíneas (morango, tabaco, café e outras), capacidade de penetrar na raiz das plantas, baixa sensibilidade às variações de temperatura e ocorrência em todos os tipos de solo e clima (ARAÚJO, 2008). Sistemas sustentáveis, visando redução na aplicação e no aumento na eficiência na utilização do N, destaca-se o uso de bactérias capazes de promoverem a fixação biológica de N (FBN) (REIS et al., 2005).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na estação experimental da Emater no município de Anápolis, GO, entre as coordenadas geográficas, Latitude – 16°20'12.614" S e Longitude 48°53'13.1010", altitude média de 1.051 m. O clima da região é classificado de acordo com Köppen, como Aw (tropical com estação seca) com mínima de 18 °C e máxima de 32 °C, com chuvas de outubro a abril e precipitação pluviométrica média anual de 1.450 mm e temperatura média anual de 22 °C.

O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico, textura média (30% argila). O experimento foi dividido em duas épocas independentes, sendo a primeira época (época 1) de 13/07/2020 até 10/08/2020, e a segunda época de 18/08/2020 até 14/09/2020 (época 2), sendo assim as características climáticas apresentadas em cada época as distinguem e não permitem a correlação.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 3x2, sendo três variedades, dois tratamentos e quatro repetições, consistente nos híbridos de milho KWS 8774 PRO3 (transgênico); ADV 9860 PRO2 (transgênico) e a cultivar bandeirantes (sem transgenia) e sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5 e AbV6. Durante a realização do trabalho, as unidades experimentais foram constituídas de vasos plásticos (5,0 Kg), as quais foram divididas em doze parcelas experimentais dispostas em ambiente protegido.

O solo da camada superficial (primeiros 10 cm de profundidade) foi peneirado para o uso. Para o preenchimento dos vasos foi utilizado mistura de duas partes de solo e uma parte de areia e posicionados na casa telada e realizada a adubação equivalente a 400 kg ha<sup>-1</sup> 08-28-18. A inoculação das sementes ocorreu cerca de 30 minutos antes da semeadura, sendo utilizados 1,0 ml de inoculante para 1.000 sementes, acondicionada em pacotes plásticos vedados para não ocorrer contaminação com microrganismos presente na atmosfera.

A semeadura foi realizada a 2,0 cm de profundidade, sendo acondicionadas quatro sementes por vaso totalizando 16 sementes por parcela, e posicionados na casa de vegetação. Após a semeadura foi realizada irrigação, a qual se procedeu diariamente, mantendo na condição de campo a umidade das parcelas experimentais (Figura 1)



**FIGURA 1** – Disposição dos vasos em ambiente protegido na estação experimental da Emater no município de Anápolis, GO

Foram coletados os dados de emergência até o 7º dia. No 20º dia as plantas foram colhidas para a realização das demais análises. Posteriormente foram efetivadas as avaliações biométricas das plântulas sendo porcentagem de emergência, índice de velocidade de emergência, tempo médio de germinação, velocidade média de emergência, massa fresca e seca das plantas (g), massa fresca e seca da raiz (g), comprimento de raiz e planta (cm) e diâmetro do caule (mm). Em seguida, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel e conduzidas para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 72 h, sendo determinada a massa seca de parte aérea (g) (MSPA) e massa seca da raiz (g) (medida) (MSR).

Os dados coletados foram tabulados e submetidos à análise de variância ANOVA e a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade realizada pelo software SISVAR® (FERREIRA, 2014).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido as diferentes condições edafoclimáticas existentes entre os dois períodos de avaliação dos experimentos, é interessante discutir os resultados separadamente por época de plantio, visando favorecer a compreensão da interação entre os genótipos avaliados com o *Azospirillum brasilense*. De acordo a tabela 1 para o comprimento de raiz (CR) não ocorre diferenças estatística entre os híbridos na presença da inoculação, porém, pode se observar que o híbrido ADV 9860 PRO2 foi o que apresentou maior CR na presença da inoculação e o pior desempenho na ausência. Plantas inoculadas com *Azospirillum* spp. tem a morfologia do sistema radicular alterada, aumentando o número de radícolas, diâmetro médio das raízes laterais e adventícias, possibilitando uma maior exploração do volume do solo (DOBBELAERE et al., 2003).

**TABELA 1** – Comprimento de raiz (CR), altura de plantas (AP), diâmetro de colmo (DC), massa fresca da raiz (MFR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA) com e sem inoculação de *Azospirillum brasilense*, plantio em 13/07/2020, Anápolis, GO

<i>Azospirillum Brasilense</i> / Época I	CR (cm)		AP (cm)		DC (mm)		MFR (g)									
	com	sem	com	sem	com	sem	com	sem								
KWS 8774 PRO3	44,0	Aa	44,8	Aa	29,3	Aa	29,5	Aa	0,2	Ab	0,2	Aa	2,2	Aa	2,3	Aa
ADV 9860 PRO2	46,7	Aa	41,5	Aa	31,6	Aa	29,3	Aa	0,2	Aa	0,2	Aa	0,4	Ac	0,4	Ab
Bandeirantes	46,3	Aa	44,8	Aa	23,7	Ab	30,5	Aa	0,1	Ac	0,2	Aa	1,2	Ab	2,3	Aa
Teste F interação	0,00	**			0,00	**			0,00	**			0,00	**		
CV(%)	15,55				16,26				26,62				16,26			
<i>Azospirillum Brasilense</i> / Época I	MFPA (g)		MSR (g)		MSPA (g)											
	com	Sem	com	sem	com	sem										
KWS 8774 PRO3	2,5	Aa	3,1	Ab	0,5	Ab	0,5	Ab	0,3	Ab	0,3	Ab				
ADV 9860 PRO2	0,3	Ab	0,3	Ac	1,3	Aa	1,1	Aa	0,6	Aa	0,7	Aa				
Bandeirantes	2,6	Aa	3,5	Aa	0,3	Ab	0,4	Ab	0,3	Ab	0,3	Ab				
Teste F interação	0,00	**			0,00	**			0,00	**						
CV(%)	10,55				13,25				24,89							

\*médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna entre híbridos, e maiúscula na linha entre inoculação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Para a AP não ocorre diferença estatística entre os híbridos e a presença da inoculação e para o DC não ocorre diferenças estatística para a presença da inoculação, porém, observar-se que o híbrido ADV 9860 PRO2 foi o que apresentou maior AP e DC na presença da

inoculação e o menor desempenho na presença da inoculação foi para o bandeirantes. Cavallet et al. (2000) observaram que plantas inoculadas com *Azospirillum* não apresentaram alteração na altura, o que é importante, pois anula o efeito negativo ligado a tombamento de plantas. Já Gitti et al. (2013) e Cunha et al. (2014) destacam que a inoculação *A. brasilense* não promoveu efeito significativo no diâmetro de colmo.

Revolti (2014) estudando os efeitos das formas de inoculação com *A. brasilense*, observou que a inoculação com a bactéria diazotrófica não influenciou o acúmulo de massa. Para MFR ocorre diferenças estatística entre os híbridos e a presença da inoculação, sendo sem a inoculação apresenta-se um melhor desempenho e para a MFPA ocorrem diferenças significativas entre os híbridos, sendo que as sementes tratadas apresentaram média semelhante as não tratadas.

Pode se observar que o híbrido KWS 8774 PRO3 foi o que apresentou maior MFR na ausência da inoculação e o pior desempenho o híbrido ADV 9860 PRO2 não havendo diferença entre a presença e ausência da inoculação. Já o híbrido bandeirantes foi o que apresentou maior MFPA na ausência da inoculação e o pior desempenho o híbrido ADV 9860 PRO2 não havendo diferença entre a presença e ausência da inoculação.

Zemrany et al. (2006) estudando a inoculação de *A. brasilense* em milho, durante dois anos consecutivos, observaram maior crescimento de raízes e maior desenvolvimento de plantas no período vegetativo. Já Dartora et al. (2013), não observaram diferença para número de raízes. Segundo Pandolfo et al. (2015), o uso da inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho não interfere no aumento de rendimento e não altera a altura e massa da planta. Já Teixeira et al. (2017), verificaram ganho percentual para altura de plantas variando de 2,2 a 25%.

Para MSR ocorre diferenças estatística entre os híbridos e para a MSPA não ocorre diferenças estatística entre os híbridos e a presença da inoculação. O ADV 9860 PRO2 foi o que apresentou maior MSR na presença da inoculação e maior MFPA na ausência.

Verona et al. (2010) relatam que não houve diferença significativa para as variáveis altura, massa seca de parte aérea e massa seca de raiz de plantas de milho inoculadas. Roberto et al. (2010) destaca que a aplicação de diferentes doses de inoculante à base dessa bactéria em milho não promove incrementos na MFR e tampouco no acúmulo de MSPA. Barilli et al. (2011) trabalhando com milho inoculado com *A. brasiliense* obtiveram resultados semelhantes, não apresentando diferenças estatísticas para a MSR e MSPA.

Os dados apresentados na tabela 2 demonstram que na época 2 não ocorrem diferenças significativas entre os híbridos para comprimento de raiz (CR) e altura de planta (AP), porém para diâmetro do colmo (DC), massa fresca de raiz (MFR) e parte aérea (MFPA), massa seca de raiz (MSR) e parte aérea (MSPA) observaram-se diferença significativa entre os híbridos com uso do *A. brasilense*. Jordão et al. (2010) observaram maiores médias dos tratamentos que receberam inoculação de *A. brasilense* via semente do que tratamentos não inoculados.

**TABELA 2** – Comprimento de raiz (CR), altura de plantas (AP), diâmetro de colmo (DC), massa fresca da raiz (MFR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA) com e sem inoculação de *Azospirillum brasilense*, plantio em 10/08/2020, Anápolis, GO

<i>A. brasilense</i> / Época II	CR (cm)				AP (cm)				DC (mm)				MFR (g)			
	com		sem		com		sem		com		sem		com		sem	
KWS 8774 PRO3	50,1	Aa	48,5	Ba	29,8	Aa	29,5	Ab	0,2	Ab	0,2	Aa	1,6	Aa	1,7	Ba
ADV 9860 PRO2	54,1	Aa	45,4	Ba	33,1	Aa	33,5	Aa	0,3	Aa	0,2	Aa	0,4	Ac	0,3	Bb
Bandeirantes	49,3	Aa	44,8	Ba	31,5	Aa	34,0	Aa	0,1	Ab	0,2	Aa	1,2	Ab	1,5	Ba
Teste F interação	0,00	**			0,00	**			0,00	**			0,00	**		
CV(%)	15,36				9,00				25,39				18,69			

<i>A. brasilense</i> / Época II	MFPA (g)				MSR (g)				MSPA (g)			
	com		sem		com		sem		com		sem	
KWS 8774 PRO3	2,3	Ba	3,0	Aa	0,5	Ab	0,6	Bb	0,3	Ab	0,4	Bb
ADV 9860 PRO2	0,3	Bb	0,3	Ab	1,2	Aa	1,1	Ba	0,8	Aa	0,7	Ba
Bandeirantes	2,3	Ba	2,9	Aa	0,5	Ab	0,6	Bb	0,3	Ab	0,4	Bb
Teste F interação	0,00	**			0,00	**			0,00	**		
CV(%)	17,25				34,19				12,9			

\*médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna entre híbridos, e maiúscula na linha entre inoculação, não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade

O CR na época II, não apresentou diferenças significativas entre os híbridos e a presença da inoculação, mas, semelhante à época I pode o ADV 9860 PRO2 foi o que apresentou maior CR na presença da inoculação e o pior desempenho na ausência. Segundo Saikia et al. (2012), um dos efeitos mais marcantes da inoculação com *A. brasilense* na morfologia das raízes é representado pela proliferação de pelos radiculares, tornando-o mais volumoso e, conseqüentemente, apto a absorver maiores quantidades de água e nutrientes.

Para a AP, também não se observou diferenças estatística entre os híbridos, como na época I, porém observa-se que sem a inoculação o KWS 8774 PRO3 apresenta menor desempenho. Bueno et al. (2015) também não observaram crescimento significativo em altura de parte aérea quando utilizou-se tratamento com bactérias diazotróficas. Não corroborando

com o trabalho de Caprio (2017), onde ocorreram diferenças significativas para a altura de planta frente a inoculação.

Para o DC não ocorre diferença estatísticas entre os híbridos e a na presença ou não da inoculação, porém, o híbrido ADV 9860 PRO2 foi o que apresentou maior DC na presença da inoculação, reforçando o observado na época I. Resultados diferentes são sugeridos por Dartora et al. (2013), que evidenciam efeito na inoculação por *A. brasilense* sobre o diâmetro do colmo do milho, proporcionando maior diâmetro em relação a testemunha de 15%, neste trabalho a diferença foi de 38% para o híbrido ADV 9860 PRO2 frente a inoculação.

Para a MFR e MFPA ocorre diferença significativa entre os híbridos e não ocorre diferença entre a presença da inoculação dentro dos híbridos, pode se observar que o híbrido KWS 8774 PRO3 apresentou o melhor desempenho na ausência da inoculação. Morais et al. (2015) relatam que o acúmulo de massas fresca e seca do sistema radicular e seu volume não foram afetados pela inoculação.

Costa et al. (2015) evidenciam que ocorre o acréscimo no acúmulo de massa com inoculação de sementes com *A. brasilense*. Padrão semelhante foi observado para a MSR e MSPA, sendo que ocorre diferenças estatística entre os híbridos frente a inoculação, o híbrido ADV 9860 PRO2 foi o que apresentou melhor desempenho.

Segundo Tonin (2019), quando comparadas à testemunha, os tratamentos não apresentaram diferença estatísticas na porcentagem de germinação, comprimento de parte aérea, comprimento de raiz e nem massa seca da raiz. Já Reis Junior et al. (2008), comparando dois híbridos de milho, com diferentes doses e inoculação com *A. amazonense* não observaram aumento da MSPA.

Reis (2007), evidenciaram variações de resultados de trabalhos com *Azospirillum spp.* estão ligadas a interações edafoclimáticas e interações com a biota do solo, além de fatores ligados à bactéria tais como: o número ideal de células por semente e a fisiologia da semente. Nesse sentido seria importante a contagem do número de células por planta, pois a falta de resultado significativo pode estar relacionada ao não desenvolvimento das bactérias.

## 5. CONCLUSÃO

A inoculação com *Azospirillum brasilense* apresenta eficiência frente aos híbridos de milho utilizado. Sendo que a presença de diferentes tecnologias da semente não teve influência decisiva sobre o desenvolvimento inicial da planta frente a inoculação.

Para o plantio no mês de julho a inoculação influenciou o desempenho nos parâmetros de comprimento de raiz, altura de plantas, diâmetro de colmo e massa seca de raiz.

Para o plantio no mês de agosto a inoculação influenciou o desempenho de comprimento de raiz, diâmetro de colmo, massa seca de raiz e parte aérea.

As variações observadas com a inoculação *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento inicial do milho devem ser melhor estudadas para a sua melhor elucidação.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE A. T., CONDÉ A. B. T., COSTA R. L., POMELA A. W. V., SOARES A. L., MARTINS F. A. D., LIMA W. T.; OLIVEIRA C. B.; Produtividade de milho em função da redução do nitrogênio e da utilização de *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.15, n.2, p. 229-239, 2016.

ANDREA, M. C. D. S., BOOTE, K. J., SENTELHAS, P. C., ROMANELLI, T. L. (2018). Variability and limitations of maize production in Brazil: Potential yield, water-limited yield and yield gaps. **Agricultural Systems**, 165, 264-273.

ARAÚJO, S.C. Realidade e perspectivas para o uso de *azospirillum* na cultura do milho. piracicaba: **IPNI – International Plant Nutrition Institute Brazil**. 32P. (IPNI. Informações agronômicas, 122). 2008.

BARILLI, D. R. Eficiência na inoculação do milho com *Azospirillum brasiliense* em diferentes períodos antes da semeadura. **Cadernos de agroecologia** – ISSN 2236 – 7934, Vol 6, N.2, Dez 2011.

BARROS, G.S. C; ALVES, L, R, A. Maior eficiência econômica e técnica depende do suporte das políticas públicas. IN. **Revista visão agrícola**. São paulo: esalq, 2015. v. 13, p. 4-6.

BARTCHECHEN A, FIORI CCL, WATANABE SH, GUARIDO RC. Efeito da inoculação de *azospirillum brasiliense* na produtividade da cultura do milho (*zea mays* l.). **Campo Digital**. 2010; 5:56-9.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, Gina. Inter-root movement of *Azospirillum brasilense* and subsequent root colonization of crop and weed seedlings growing in soil. **Microbial ecology**, v. 29, n. 3, p. 269-281, 1995.

BASHAN, Y, DE-BASHAN, le. How the plant growth-promoting bacterium *azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment, **Advances in agronomy**, San diego, v.108, p.77-136, 2010.

BERGAMASCHI, H., DALMAGO, G. A., COMIRAN, F., BERGONCI, J. I., MÜLLER, A. G., FRANÇA, S., PEREIRA, P. G. (2006). Déficit hídrico e produtividade na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41(2), 243-249.

BUENO, J. C. F; SOARES, C. R. F. S; ARISI, A. C. M. **Interação entre a bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae* cepa SmR1 e o milho (*Zea mays* L.) cultivar DKB 390 nos estádios iniciais do desenvolvimento vegetal**. 2015. Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina.

BULLA, DIEGO; JUNIOR, ALVADI, A. B. Inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* em diferentes doses de nitrogênio. **Revista agropecuária catarinense**, V. 25, N. 2, JUL, 2012.

BUSATO, C.; BUSATO, C.C.M. crescimento inicial da cultura do milho em cultivo consorciado. **Enciclopédia biosfera**, centro científico conhecer, Goiânia, v.7, n.13, p.307-316, 2011

CAIRES, E. F.; MILLA, R. Adubação nitrogenada em cobertura para o cultivo de milho com alto potencial produtivo em sistema de plantio direto de longa duração. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p. 87-95, 2016.

CAPRIO, C. H. (2017). Interação de variedades de milho sob inoculação com *Azospirillum* brasilense em diferentes épocas de semeadura.

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

CICILIATO, A. L., CASIMIRO, E. L. N. Inoculante *Azospirillum brasilense* via foliar associado a diferentes fertilizantes foliares na cultura do milho. **Revista Cultivando o Saber**, v. 8, n. esp, 2015.

CHAGAS, J. F. R.; SANTOS, G. R. D.; COSTA, R. V. D.; ALVES, J. F.; NASCIMENTO, I. R. D. Adubação nitrogenada na severidade de doenças foliares, produtividade e respostas bioquímicas em híbridos de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.17, n.1, p. 1-14, 2018

COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. S. F.; NAVES, D. C. F.; SANTOS, C. B.; ROCHA, A. F. S. Eficiência de inoculante com *Azospirillum* brasilense no crescimento e produtividade de milho de segunda safra. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 304-311, 2015.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira Grãos: 11º Levantamento - Safra 2017/18**. Brasília, 2018.

CONAB.COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira – grãos: Terceiro levantamento, dezembro 2019 – Safra 2019/20**.

CUNHA, F. N., DA SILVA, N. F., BASTOS, F. J. D. C., DE CARVALHO, J. J., MOURA, L. M. D. F., TEIXEIRA, M. B.; SOUCHIE, E. L. (2014). Efeito da *Azospirillum* brasilense na produtividade de milho no sudoeste goiano. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 13(3), 261-272.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; JÚNIOR, A. S. P.; CUZ, L. M.; MENSCH, R. Influência do tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Scientia Agraria Paranaensis**, 12(3), 175-181. (2013).

DEPEC. Economia em dia. **Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos (BRADESCO)**, 2017.

DE MORAIS, T. P., DE BRITO, C. H., DE SIQUEIRA FERREIRA, A., LUZ, J. M. Q. (2015). Aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímico do solo em resposta à adubação nitrogenada. *Ceres*, 62(6).

DEL GALLO, M.; FENDIRIK, I. The rhizosphere and *Azospirillum*. In.: OKON, Y. (Eds.). *Azospirillum. Plant associations*. BOCA RATON: CRC PRESS, 1994, P.57-75.

DHEIN, M, FILICETTI, J.; RHODEN, A, C.; FELDMANN, N, A.; BALBINOT, M.; MÜHL, F, R. Efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. Simpósio de agronomia e tecnologia em alimentos. **Agrotec**, 2014.

DÖBEREINER, J. Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas. in.: cardoso, e.j.b.n., tsai, s.m., neves, m.c.p. **Microbiologia do solo**. Campinas: sociedade brasileira de ciência do solo, p. 173-180, 1992.

DOBBELAERE, S., VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. (2003). Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical reviews in plant sciences**, 22(2), 107-149.

DUETE, R. R. C., MURAOKA, T., SILVA, E. C. D., AMBROSANO, E. J., TRIVELIN, P. C. O. (2009). Acúmulo de nitrogênio (15N) pelos grãos de milho em função da fonte nitrogenada em Latossolo Vermelho. **Bragantia**, 68(2), 463-472.

EL ZEMRANY, H., CORTET, J., LUTZ, M. P., CHABERT, A., BAUDOIN, E., HAURAT, J., MOËNNE-LOCCOZ, Y. (2006). Field survival of the phytostimulator *Azospirillum lipoferum* CRT1 and functional impact on maize crop, biodegradation of crop residues, and soil faunal indicators in a context of decreasing nitrogen fertilisation. **Soil Biology and Biochemistry**, 38(7), 1712-1726.

FAO - ORGANIZAÇÃO PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA. **Divisão de estatística**. Disponível em: <http://.fao.org/brasil> >. Acesso 13 mar. 2020.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotec.**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.

FILHO, I. A. P. **Embrapa. Sistema de Produção**, 1 ISSN 1679-012X.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 2007.

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

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

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo.** Londrina: Embrapa Soja, 2011. (DOCUMENTOS; 395).

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: **FERTBIO**, 2010, Guarapari. Anais... Viçosa: SBCS, 2010. 1 CD-ROM.

KAPPES, C., SILVA, R. D., FERREIRA, V. E. N. (2017). Aplicação foliar de *azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura no milho safrinha. **Scientia Agraria Paranaensis**, 16(3), 366-373.

LIBÓRIO, P. H., BÁRBARO-TORNELI, I. M., NÓBILE, F. D., ANUNCIAÇÃO, M., MIGUEL, F., SILVA, J. D. (2016). Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada á adubação nitrogenada reduzida em híbridos de milho. **Nucleus**, 13(2), 241-252.

MARTINS, F. A. D.; ANDRADE, A. T.; CONDÉ, A. B. T.; GODINHO, D. B.; CAIXETA, C. G.; COSTA, R. L.; POMELA, A. W. V.; SOARES, C. M. S. Avaliação de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 18, n. 2, p. 113-128, 2012

MIRANDA, R. A. DE. Uma história de sucesso da civilização. **A Granja**, v. 74, n. 829, p. 24-27, jan. 2018.

MISHRA, P. S. Genetic basis of flocculation in *Azospirillum brasilense*. Master's thesis: **University of Tennessee**, 2012.

MÔRO, G. V., Fritsche-Neto, R. (2015). Importância e usos do milho no Brasil. **BORÉM, A.; GALVÃO, JCC; PIMENTEL, MA Milho: do plantio à colheita.** Viçosa: Ed. UFV, 9-25.

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

OKUMURA, R. S.; MARIANO, D. C.; ZACCHEO, P. V. C. Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, V.4, n.2, p.226-244, 2011.

OKON. Y., VANDERLEYDEN. J.; ROOT. Associated *azospirillum* species can stimulate 48 plants. **Applied and Environment Microbiology**, Washington, v.6, n.7, p.366-370, 1997.

OLIVEIRA, L. R. DE. ET AL. Eficiência na absorção e utilização de nitrogênio e atividade enzimática em genótipos de milho. **Revista Ciência Agronômica. Centro de Ciências Agrárias** – Universidade federal do Ceará, fortaleza, v44, n3, set, 2013.

PAES, M. C. D. (2006). Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. **Embrapa Milho e Sorgo-Circular Técnica (INFOTECA-E)**.

PANDOLFO, C. M., VOGT, G. A., BALBINOT JÚNIOR, A. A., GALLOTTI, G. J. M., ZOLDAN, S. R. (2015). Desempenho de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a doses de nitrogênio em cobertura. **Embrapa Soja-Artigo em periódico indexado (ALICE)**.

PEDRAZA, R. O., BELLONE, C. H., DE BELLONE, S. C., SORTE, P. M. F. B., DOS SANTOS TEIXEIRA, K. R. (2009). *Azospirillum* inoculation and nitrogen fertilization effect on grain yield and on the diversity of endophytic bacteria in the phyllosphere of rice rainfed crop. **European Journal of Soil Biology**, 45(1), 36-43.

PIES, W., WERLANG, T., DA LUZ, A. C. P., AURÉLIO, M. Desenvolvimento inicial da cevada inoculada com *Azospirillum brasilense* em competição com populações de azevém, **Agrarian Academy**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.4, n.8; p. 2017

QUADROS, P. D. Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no rio grande do sul. 2009. 62P/74 P. **Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo)** – Universidade federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

QUADROS, P. D. D., ROESCH, L. F. W., SILVA, P. R. F. D., VIEIRA, V. M., ROEHRS, D. D., CAMARGO, F. A. D. O. (2014). Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *azospirillum*. **Revista Ceres**, 61(2), 209-218.

REVOLTI, L, T, M., Interação genótipo vs formas de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho. 2014.

REIS, V. M. (2007). Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. **Embrapa Agrobiologia-Documentos (INFOTECA-E)**.

REIS JUNIOR, F. B. D., MACHADO, C. T. D. T., MACHADO, A. T., SODEK, L. (2008). Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, 32(3), 1139-1146.

REIS, J. G. M. D., VENDRAMETTO, O., NAAS, I. D. A., COSTABILE, L. T., MACHADO, S. T. (2016). Avaliação das Estratégias de comercialização do milho em MS aplicando o analytic hierarchy process (AHP). **Revista de Economia e Sociologia Rural**, 54(1), 131-146.

REIS, V. M., TEIXEIRA, K. D. S. (2005). Fixação biológica de nitrogênio-estado da arte. **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 28, 350-68.

REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. BIOLOGICAL Nitrogen fixation in gramineae and palm trees. Critical review; **Plant Sciences**, Amsterdam, v. 19, n. 3, p. 227-247, 2000.

ROBERTO, V. M. O., SILVA, C. D., LOBATO, P. N. (2010) Resposta da cultura do milho à aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente. In: 28º Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Goiânia. Anais, **Associação Brasileira de Milho e Sorgo**. p.2429-2434

SAIKIA, S. P., BORA, D., GOSWAMI, A., MUDOI, K. D., GOGOI, A. (2012). A review on the role of *Azospirillum* in the yield improvement of non leguminous crops. **African Journal of Microbiology Research**, 6(6), 1085-1102.

SILVEIRA, A. P. D.; SALA, V. M. R.; CARDOSO, E. J. B. N.; LABANCA, E. G.; CIPRIANO, M. A. P. Nitrogen metabolism and growth of wheat plant under diazotrophic endophytic bacteria inoculation. **Applied Soil Ecology**, v. 107, p. 313- 319, 2016.

SIMÃO, E. P. Características agronômicas e nutrição do milho safrinha em função de épocas de semeadura e adubação. **Universidade Federal de São João Del-Rei**. Sete Lagoas – MG, 2016.

SOLOGUREN, L. Demanda mundial cresce e brasil tem espaço para expandir produção. **Visão Agrícola**, 2015, 13.1: 8-13.

SUBEDI, K. D.; MA, B. L. Assessment of some major yield-limiting factors on maize production in a humid temperate environment. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.110, n.1, p.21-26, 2009.

SZILAGYI-ZECCHIN, V. J., MARRIEL, I. E., DA SILVA, P. R. (2017). Produtividade de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* em diferentes doses de nitrogênio cultivado em campo no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, 40(4), 110-119.

TAIZ, L., ZEIGER, E., MAFFEI, M. (2013). **Fisiologia vegetale**. Piccin.

TEIXEIRA, N. T.; WITT, L.; SILVA FILHO, P. R. R. Microrganismos de regeneração nas propriedades químicas do solo, desenvolvimento e produção de milho. **Engenharia Ambiental: pesquisa e tecnologia**, v.14, p.72-80, 2017.

TONIN, J. S. (2019). Influência da inoculação de *Azospirillum brasilense* em diferentes temperaturas na germinação de sementes de milho (*Zea mays*).

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: **associação brasileira de milho e sorgo**, 2010.