

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DO *Azospirillum brasilense* NA EFICIÊNCIA DO USO DE
NITROGÊNIO EM HÍBRIDOS DE MILHO EM DIFERENTES SUCESSÕES DE
CULTURA**

OTÁVIO HENRIQUE DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Vitti Môro

Coorientadores: Guilherme Amâncio Vieira Grunewald

Ezequiel Soares da Silva

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias - Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, para graduação em ENGENHARIA
AGRONÔMICA.

Jaboticabal – SP
2º Semestre/2024

Silva, Otávio Henrique

S586e Efeito do Azospirillum brasilense na eficiência do uso de nitrogênio em híbridos de milho em diferentes sucessões de cultura/
Otávio Henrique Silva. -- Jaboticabal, 2024

51 p. : tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Engenharia Agrônômica) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Gustavo Vitti Môro

Coorientador: Guilherme Amâncio Vieira Grunewald | Ezequiel Soares da Silva

1. Milho. 2. Azospirillum brasilense. 3. Nitrogênio. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Dados fornecidos pelo autor(a).

OTÁVIO HENRIQUE DA SILVA

EFEITO DO *Azospirillum brasilense* NA EFICIÊNCIA DO USO DE NITROGÊNIO NO MILHO

Trabalho de Iniciação Científica apresentado à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Vitti Môro
Coorientadores: Me. Guilherme Amâncio Vieira Grunewald
Eng. Agron. Ezequiel Soares da Silva

Área de Concentração: Melhoramento Genético de Milho

Data da defesa: 05/12/2024

(X) Aprovado

() Reprovado

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente
GUSTAVO VITTI MORO
Data: 05/12/2024 21:24:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Gustavo Vitti Môro

UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal

Documento assinado digitalmente



RINALDO CESAR DE PAULA
Data: 05/12/2024 16:23:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula

UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal

Documento assinado digitalmente



FABIO LUIZ CHECCHIO MINGOTTE
Data: 05/12/2024 18:15:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Fábio Luiz Checchio Mingote

UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal

Aprovado “ad referendum” do Conselho do Departamento em:

09/12/2024



Profª. Dra. Cibele Chalita Martins
Chefe do Departamento

À minha família, meus amigos, e ao meu amor pelo carinho e apoio.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, expresso minha gratidão a Deus pelas conquistas alcançadas e por guiar cada etapa de minha vida.

Ao professor Doutor Gustavo Vitti Môro, meu orientador, pelo esforço, orientação, apoio e confiança. Ao meu coorientador, Guilherme Amâncio Vieira Grunewald, pela parceria e valiosos conselhos durante nosso período de trabalho conjunto, e ao Ezequiel Soares da Silva pelas inúmeras explicações, pela paciência e amizade.

Aos membros do NEGEMM (Núcleo de Estudos em Genética e Melhoramento de Milho) por sempre me auxiliar, apoiar e ensinar.

Agradeço à equipe da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela concessão da bolsa de iniciação científica (processo 2022/03344-1).

Finalmente, agradeço à Unesp/FCAV pelos melhores anos de minha vida, contribuindo significativamente para minha formação profissional e desenvolvimento pessoal

Sumário

RESUMO	iii
SUMMARY	iii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA:	4
2.1. Sistemas de cultivo	4
2.2. Nitrogênio	7
2.3. Bactérias diazotróficas e a cultura do milho	9
3. OBJETIVO	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1. Caracterização da área experimental	14
4.2. Delineamento experimental e tratamentos	15
4.3. Preparo da área, condução do experimento e inoculações	16
4.4. Avaliações e colheita do experimento	17
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.1. Híbrido MG593PWU	20
5.2. Híbrido FS775PWU	24
5.3. Híbrido P4285VYHR	29
6. CONCLUSÃO	33
7. LITERATURA CITADA	34

RESUMO

O Nitrogênio (N) é o nutriente mais requerido na cultura do milho, sendo a sua disponibilidade no solo um dos principais fatores limitantes para alcançar altas produtividades. Para que a cultura atinja níveis maiores de produtividade, o uso de fertilizantes contendo N é imprescindível. Contudo, a adubação à base de N acaba sendo responsável pela maior parte dos custos dentro do processo de produção, já que se faz necessário usar grandes quantidades para suprir o déficit causado pela baixa fertilidade dos solos e as necessidades da planta, o que também pode ser nocivo ao meio ambiente. A otimização na eficiência do uso de Nitrogênio (EUN) possibilita que as plantas possam usar o N de maneira mais eficiente, permitindo que se tenha maiores produtividades com maior sustentabilidade, aplicando-se menor quantidade de N. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi verificar o efeito do *Azospirillum brasilense* na eficiência do uso de Nitrogênio (EUN) em milho. O experimento para avaliar o efeito do *Azospirillum* na EUN foi conduzido na safra 2022/2023, no delineamento experimental de blocos ao acaso com 5 repetições em esquema de faixas. Foram avaliados três híbridos comerciais de milho com duas plantas de cobertura, com e sem aplicação de Nitrogênio e com e sem inoculação com *Azospirillum brasilense*. A inoculação com *Azospirillum brasilense* em plantas de milho, afeta a EUN para a altura de plantas, altura de espigas e teor de clorofila, especialmente nos tratamentos que receberam adubação de base. O impacto da inoculação foi heterogêneo, apresentando diferenças significativas conforme o híbrido analisado, indicando que o efeito benéfico da bactéria depende do genótipo.

Palavras-chave: *Zea mays* L., *Azospirillum brasilense*, eficiência do uso de Nitrogênio, inoculação, sistemas de cultivo.

SUMMARY

Nitrogen (N) is the most required nutrient in maize, and its availability in soil is one of the main limiting factors to achieve high yields. For the crop to reach higher levels of productivity, the use of N-based fertilizers is essential. However, N-based fertilization ends up being responsible for most of the costs within the production process, since it is necessary to use large quantities to meet the deficit caused by low soil fertility and plant needs, which can also be harmful to the environment. The optimization in the efficiency of the use of Nitrogen (NUE) allows plants to use N more efficiently, allowing them to have higher yields with greater sustainability, applying less amount of N. Given the above, the objective of this study was to verify the effect of *Azospirillum brasilense* on the efficiency of the use of Nitrogen (NUE) in corn. The experiment to evaluate the effect of *Azospirillum* on EUN was conducted in the 2022/2023 harvest, in a randomized block design with 5 replications in a stripe scheme. Three commercial hybrids of corn with two cover plants, with and without nitrogen application and with and without inoculation with *Azospirillum brasilense* were evaluated. Inoculation with *Azospirillum brasilense* in corn plants, affects the NUE for plant height, spike height and chlorophyll content, especially in treatments that received base fertilization. The impact of inoculation was heterogeneous, with significant differences according to the hybrid analyzed, indicating that the beneficial effect of the bacteria depends on the genotype.

Keywords: *Zea mays L.*, *Azospirillum brasilense*, efficiency of nitrogen use, inoculation, cultivation systems.

1. INTRODUÇÃO

O aumento populacional e a demanda por alimentos são fatores que crescem proporcionalmente. O milho (*Zea mays L.*), um dos alimentos mais consumidos em toda cadeia global, é considerado a principal cultura agrícola do mundo (CONTINI et al., 2019; FAOSTAT, 2020), sendo estimada para safra 2024/25 uma produção mundial de mais de 1,220 bilhão de toneladas (USDA, 2024). A cultura do milho vem ganhando maior relevância, tanto no aspecto econômico quanto social, uma vez que acaba servindo de matéria prima para diversos fins. Estima-se que existam mais de 3.500 aplicações para esse cereal, que vão desde produtos alimentícios, plásticos, bebidas a até mesmo combustíveis (MIRANDA et al., 2018).

De acordo com o relatório "World Population Prospects 2024", publicado pela Divisão de População do Departamento de Assuntos Econômicos e Sociais (DESA) da Organização das Nações Unidas, no ano de 2050, a população mundial ultrapassará a marca de 9,7 bilhões e, em 2080, poderá ser superior a 10,4 bilhões de pessoas (ONU, 2024). Dessa forma, a demanda alimentar passará a crescer cada vez mais. Além disso, cabe ressaltar que a oferta de terras com disponibilidade agrícola é bastante concentrada. Entretanto, o Brasil segue um curso diferente, expandindo quase 10 milhões de hectares para utilização da agricultura neste mesmo período (FAO, 2021).

Muitos avanços, principalmente no campo do melhoramento genético, foram introduzidos à agricultura nos últimos tempos, como novos eventos com

resistência a pragas e herbicidas, visando sempre o aumento de produtividade das safras (BENSEN, 2020). A produtividade do milho tem relação direta e indireta com diversos fatores, como a disponibilidade de nutrientes presentes no solo, ocorrência de doenças e pragas, disponibilidade de água, condições climáticas, genótipo utilizado, entre outras variáveis (SILVA et al., 2020).

Com intuito de que a lavoura de milho atinja altos níveis de produtividade é fundamental que se faça presente o uso de fertilizantes nitrogenados (BESEN et al., 2020), já que o nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade pela planta de milho, sendo conseqüentemente um dos maiores fatores limitantes da produtividade da cultura (FARINELLI e LEMOS, 2012; CIAMPITTI et al., 2021).

Visando aumentar os índices de produtividade da cultura, de maneira menos onerosa e gerando menos impactos ambientais, algumas estratégias vêm sendo adotadas. A primeira consiste na aplicação de bactérias diazotróficas associativas, para que assim se tenha uma melhor fixação de N (LADHA et al., 2016). Essas bactérias fixadoras de N correspondem principalmente as do gênero *Azospirillum* (HUNGRIA et al., 2010). Já a segunda, parte do princípio de desenvolver plantas com melhor eficiência do uso de nitrogênio.

A eficiência do uso de N (EUN) tem relação direta com a quantidade fornecida de N por meio de fertilizantes químicos aproveitada pela planta para a produção de biomassa ou de grãos. Podemos expressar essa variável através da relação entre o peso produzidos de grão e a quantidade de N aplicada na

planta durante o seu ciclo de desenvolvimento (MOLL et al., 1982). Essa medida pode variar de acordo com a presença de microrganismos de solo, genótipo e fatores fisiológicos da planta de milho.

Desta forma, torna-se evidente a necessidade de pesquisas para definir com maior exatidão quanto de N mineral deve ser aplicado em combinação com o *Azospirillum brasilense* buscando atingir a maior produtividade de grãos de milho, além de maximizar o desenvolvimento da cultura. O sucesso da prática de inoculação pode estar relacionado diretamente com a especificidade da interação entre espécies ou genótipos de plantas e as espécies ou estirpes das bactérias, assim como fatores do ambiente (BRACCINI, 2012).

Garcia de Salomone et al. (1996) demonstraram em seu estudo que a eficiência da inoculação depende do genótipo do hospedeiro e da bactéria, de maneira a sugerir que selecionando adequadamente os genótipos, a inoculação com *Azospirillum* spp. pode substituir parcialmente a fertilização nitrogenada.

Assim, como hipótese, supõem-se que a inoculação com *Azospirillum brasilense* poderia ter potencial para aumentar a eficiência do uso de Nitrogênio na cultura do milho. Para aumentar a representatividade dos resultados, no presente trabalho, foram utilizados fatores variáveis, como por exemplo diferentes híbridos, culturas antecessoras de coberturas e doses de N, simulando diferentes condições possíveis, visando representar o máximo possível as condições reais.

2. REVISÃO DE LITERATURA:

2.1. Sistemas de cultivo

Levando em consideração as questões socioambientais e de preservação ambiental, pesquisadores sugeriram que o caminho mais correto a ser seguido é buscar aumentar a produtividade por área, ao invés de expandir novas terras para plantio (FOLEY et al., 2011; MIRANDA et al., 2019). As projeções indicam que a agricultura mundial deverá crescer cerca de 61%, para garantir o consumo da população em 2050 (OCDE, 2021). No caso específico do milho, as projeções indicam a necessidade de um crescimento da produção mundial de 160 milhões de toneladas, na próxima década (OCDE, 2021).

De maneira que a cultura consiga suprir toda a demanda necessária para as projeções futuras, será fundamental que ocorra um crescimento anual de cerca de 2,4% na produção, contudo, os índices de crescimento apontados na última década, vem se mostrando relativamente baixos, quando se objetiva chegar nos resultados desejados para 2050 (RAY et al., 2013, 2019; EMBRAPA, 2018), de maneira que se faz necessário, por meio de novas técnicas e estudos, um aumento de produtividade da cultura, visando a adoção de práticas sustentáveis.

A adoção do sistema de plantio direto em conjunto com a rotação de culturas, proporciona maior produtividade da lavoura de milho, devido ao comprovado aumento da quantidade de nitrogênio com potencial de mineralização disponível no solo. Dessa forma, os índices de nitrogênio nas camadas de 0 a 10 cm do solo são maiores, por consequência da presença de resíduo de culturas anteriores (GOMES et al., 2007). O êxito dessa prática de manejo consiste na

produção de fitomassa, oriunda dos restos da cultura anterior em forma de palhada, que é deixada sob o solo, que acaba por reduzir a perda de nutrientes (BORGHI et al., 2007; SALOMÃO et al., 2020).

Segundo Lovato et al. (2004), o método de preparo do solo e as práticas de manejo influenciam diretamente a quantidade e a eficiência de utilização dos nutrientes absorvidos pelo milho, impactando na produtividade da cultura. O Sistema de Plantio Direto (SPD) é uma técnica de manejo que aprimora os atributos químicos, físicos e biológicos do solo, além de diminuir a perda de nutrientes e a erosão superficial, resultando em maior produtividade (BERTÉ et al., 2010).

Os princípios fundamentais do SPD incluem a ausência de revolvimento do solo, a rotação de culturas e a cobertura vegetal, que protegem o solo contra a erosão causada pelo impacto das gotas de chuva e pelo escoamento superficial (PECHE FILHO, 2005). O sucesso dessa técnica conservacionista está ligado à produção de fitomassa (GONÇALVES et al., 2000), sendo essencial manter a cobertura do solo. Os resíduos das plantas de cobertura ou de pastagens, além dos restos culturais da última safra, criam um ambiente propício para a recuperação ou manutenção das propriedades biológicas do solo (MENEZES e LEANDRO, 2004).

No plantio direto, as culturas de cobertura são amplamente utilizadas para formar a palhada, disponibilizando e liberando nutrientes para as culturas subsequentes (SILVA e MENEZES, 2007). A duração da cobertura morta na

superfície do solo depende da taxa de decomposição dos resíduos vegetais. Uma decomposição mais rápida libera nutrientes rapidamente, mas oferece menos proteção ao solo. Por isso, costuma-se consorciar leguminosas com gramíneas: as gramíneas decompõem-se mais lentamente, proporcionando proteção ao solo por mais tempo, enquanto as leguminosas se decompõem rapidamente e liberam nitrogênio (N) no solo.

As leguminosas são frequentemente usadas como cobertura do solo devido à sua capacidade de simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, ao sistema radicular profundo que extrai nutrientes de camadas mais profundas, e à alta produção de massa seca. Em alguns solos, onde a lixiviação e volatilização de nutrientes como nitrogênio e potássio são acentuadas, o uso dessas plantas pode reduzir essas perdas (SILVA e MENEZES, 2007; SOUZA e LOBATO, 2004).

Fatores como o manejo adequado da dose, da fonte nitrogenada e da época de aplicação do fertilizante nitrogenado são cruciais para a eficiência do uso do nitrogênio pelo milho (SILVA et al., 2005; OKUMURA et al., 2011). O nitrogênio necessário para o milho é absorvido ao longo de todo o ciclo da planta, com maior demanda na fase vegetativa V3 (BULL 1993), quando o potencial produtivo é definido. Portanto, é essencial que o N esteja disponível desde essa fase (MAGALHÃES e DURÃES, 2006). A adubação nitrogenada deve ser feita de forma parcelada para minimizar perdas por lixiviação (CANTARELLA, 2007). Fancelli e Tsumanuma (2007) indicam que, para cada tonelada de grão produzido, o milho extrai entre 15 a 20 kg de N.

Em geral, a eficiência dos fertilizantes nitrogenados no milho diminui com o aumento da dose aplicada devido às perdas por lixiviação, volatilização e desnitrificação (SILVA et al., 2006). Para aumentar essa eficiência e reduzir perdas, são recomendadas práticas como o parcelamento da aplicação e a escolha da época adequada, que sincronizam as aplicações com os períodos de maior demanda de N pela planta (SILVA et al., 2005).

2.2. Nitrogênio

O Nitrogênio é de suma importância para a cultura devido ao fato de ser um dos principais nutrientes que compõem as estruturas dos aminoácidos e ácidos nucleicos (TAIZ e ZIGER, 2009; DEIENNO et al., 2021), além de ter grande interferência nos processos fotossintéticos (SILVA et al., 2005), bioquímicos e metabólicos da planta (FORNASIERI FILHO, 2007). Apesar da sua grande importância, a adubação a base de nitrogênio acaba sendo uma das maiores despesas dentro do processo de produção (SOUZA et al., 2012), chegando a representar 30% de todo o custo de produção (IMEA, 2023), já que o mesmo se faz necessário em grande quantidade para suprir o déficit deste nutriente devido aos solos, na maioria dos casos, apresentarem baixa fertilidade (MARTINS et al., 2018).

O nitrogênio disponível no solo, para uso das plantas de milho, é fruto basicamente da decomposição de matéria orgânica presente no solo e de

fertilizantes químicos (SILVA et al., 2006). A absorção do nitrogênio presente no solo, pela planta de milho, está em torno de 60% aproximadamente, podendo ser menor em alguns casos (BROCH et al. 2008). Este nutriente sofre algumas transformações, que acabam acarretando perdas significativas, especialmente a mineralização e imobilização, nitrificação e desnitrificação, lixiviação e volatilização (BONO et al., 2008).

Para aumentar a eficiência tanto da absorção, quanto da adubação nitrogenada, é importante se ter conhecimento do histórico da área que será utilizada para o plantio, somado a adoção das práticas adequadas de manejo do solo (PORTUGAL et al., 2017). O aumento na demanda por fertilizantes à base de nitrogênio, em conjunto com seu alto custo, tem incentivado pesquisas para o processo de fixação natural no solo (SAIKIA e JAIN, 2007; DIONÍSIO et al., 2016).

Um ponto importante de se ressaltar são os impactos sociais e ambientais causados pela adubação nitrogenada, já que em alguns casos podem afetar tanto a flora como a fauna de uma determinada região, seja por meio da contaminação do solo, que pode levar à perda gradativa de nutrientes do solo, ou da água. Esta contaminação pode ocorrer por intermédio de processos como erosões e ou lixiviação que acabam por levar resquícios dos compostos químicos presentes nos fertilizantes a rios, lagos e lençóis freáticos (CARVALHO et al., 2012).

2.3. Bactérias diazotróficas e a cultura do milho

A fixação biológica de nitrogênio atmosférico é um processo mediado por microrganismos denominados de diazotróficos. Eles podem ser encontrados em associação com espécies vegetais, em vida livre e, em alguns casos, exercendo relação de simbiose, como ocorre com as leguminosas (DE SOUZA MOREIRA et al., 2010). Dentre os microrganismos promotores de crescimento em plantas, as bactérias do gênero *Azospirillum* são amplamente estudadas pelos pesquisadores (BASHAN E DE-BASHAN, 2010) e possuem a capacidade de promover o crescimento das plantas por vários mecanismos. Dentre esses mecanismos pode-se citar a biossíntese e a liberação de aminoácidos, ácido indol-acético, citocininas e giberelinas. Assim, o desenvolvimento radicular é favorecido, de maneira que a absorção de água e nutrientes pelas plantas é intensificada (VEJAN et al., 2016).

Ademais, o *Azospirillum* consegue fixar o N atmosférico, por meio do processo de fixação biológica, contribuindo diretamente para a disponibilização do nutriente para as espécies não leguminosas (PANKIEVICZ et al., 2015). Como mencionado elas são capazes de converter o N₂ atmosférico em amônio (NH₄⁺) por meio da ação da enzima nitrogenase (HUNGRIA; CAMPOS; MENDES, 2007), comprovando a eficiência de *Azospirillum* spp. em tornar o nutriente possível de ser assimilado e utilizado pelas plantas (STEENHOUDT; VANDERLEYDEN, 2000).

Dentre as bactérias do gênero *Azospirillum*, a que possui maior capacidade de realizar associação com gramíneas é o *Azospirillum brasilense*, apresentando potencial de fixação biológica de nitrogênio (FUKAMI et al. 2016), além de atuar na produção e secreção de fitohormônios e no aumento da disponibilidade de nutrientes (TIEN et al., 1979). Com base em um levantamento realizado, as bactérias do gênero *Azospirillum* estão associadas a mais de 113 espécies vegetais de 35 famílias botânicas diferentes (PEREG et al., 2016).

A inoculação de campo tem se mostrado uma possível alternativa ao uso de fertilizantes com N, podendo suplementar ou até mesmo, em alguns casos, substituir o uso dos mesmos dentro de cadeias específicas de produção agrícola (MILLÉO e CRISTÓFOLI, 2016). Segismundo et al. (2020) reportaram a possibilidade de substituir a aplicação química de N, em cobertura, pela inoculação de *Azospirillum brasilense* em variedades de milho.

Na cultura do milho existem muitas inconsistências em relação aos resultados de pesquisas, uma vez que existem trabalhos que demonstraram não ocorrer mudanças significativas na produtividade, de maneira a não se recomendar a utilização do *Azospirillum* para essa finalidade (PORTUGAL et al., 2017; REVOLTI et al., 2018) e outros que afirmam a ação positiva da inoculação, mesmo quando submetida a condições diferentes de clima e solo (FUKAMI et al. 2017). Contudo, levando em consideração o histórico de trabalhos sobre o tema, pode-se afirmar que muitos benefícios já foram observados após a inoculação de plantas de milho com *Azospirillum* spp. (ANDRADE et al., 2024; VITTO et al., 2022; SILVA JUNIOR et al., 2021).

Marques et al. (2020) relataram aumento de 35% na produtividade, quando comparado ao controle sem inoculação. Reis Júnior et al. (2008) comprovaram, mediante a inoculação com *Azospirillum brasilense* em dois híbridos intervarietais de milho, um aumento de 15% na produção de massa seca das raízes e de 21% na quantidade de N presente nas raízes, reafirmando que o desenvolvimento radicular tem ligação direta com a capacidade de absorção de nutrientes, em específico o N (CHEN et al., 2013). Galindo et al. (2019) recomendam 100 kg/ha de N como fonte de ureia, em conjunto com a inoculação de *Azospirillum brasilense* para alcançar o maior nível de rentabilidade da cultura, porém essas recomendações podem variar de acordo com diversos fatores.

O rendimento de grãos aumenta com a inoculação com *Azospirillum*, provavelmente devido ao aumento do diâmetro da espiga e do número de fileiras, o que pode ser explicado pelo aumento da fixação biológica que a bactéria oferece a planta, favorecendo o desenvolvimento das raízes e o crescimento, além de favorecer a processo fotossintético, aumentando o rendimento (BASHAN e DE- BASHAN, 2010).

Do mesmo modo, Montañez et al. (2005), ao avaliarem o comportamento de 19 cultivares de milho em resposta a diferentes estirpes de bactérias diazotróficas, observaram resultados distintos, com alguns destes genótipos se mostrando mais responsivos à interação com essas bactérias, em relação a FBN e o nível de adubação nitrogenada que pode influenciar na fixação biológica. Em experimento, no qual foram utilizados 46 genótipos diferentes de milho, foi

relatado aumento de 5% no rendimento de grãos com a inoculação de *Azospirillum* e, nos genótipos avaliados, 65% obtiveram uma melhor resposta, quando inoculados com bactérias, e dois genótipos em específico se destacaram, demonstrando que a resposta de fixação de N pode ser relacionada com o genótipo utilizado (SEGISMUNDO et al., 2020).

O modo como a bactéria beneficia as plantas ainda não foi totalmente esclarecido. Muitos dos benefícios advindos da prática da inoculação com *Azospirillum* são atribuídos a certos mecanismos de ação, como a FBN e a produção de hormônios promotores de crescimento (BALDANI, 2005). Entretanto, as consequências resultantes da FBN ainda são alvo de discussões.

As plantas absorvem o N nas seguintes formas: nitrato (NO_3^-) ou amônio (NH_4^+). Para que o N seja assimilado e convertido em aminoácidos, é necessário que ocorra a redução do nitrato de amônio. Primeiramente, ocorre a redução de nitrato em nitrito (NO_2), catalisada no citosol pela enzima nitrato redutase (NR). Essa etapa é considerada limitante para a taxa de assimilação de N (MORRISON, et al., 2010). Após isso, o amônio gerado a partir do nitrito, ou da FBN, é metabolizado pelo complexo GS/GOAT (Glutamina Sintetase/Glutamato Sintase) (MASCLAUX-DAUBRESSE et al., 2010).

Em relação à assimilação de N pelas plantas, o perfil de expressão dos genes que codificam enzimas como a NR e GS, podem contribuir para o melhor entendimento da interação da planta com a bactéria, quanto a FBN, uma vez que estas são enzimas chaves no metabolismo do nitrogênio. Em milho, a

assimilação de nitrato como forma de metabolizar o N é de fundamental importância em sistemas agrícolas que utilizam baixa ou alto nível tecnológico (MORRISON, et al., 2010).

Foi verificada também a correlação entre o conteúdo de N, de clorofila, teor de proteína solúvel e atividade de GS, sendo encontrados QTL para peso de mil grãos. Pereira-Defilippi et al. (2017) em trabalho com o objetivo de verificar a expressão quantitativa relativa de ESTs chaves no metabolismo do N em genótipos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense*, relataram diferentes respostas quanto à inoculação com *A. brasilense*, com os híbridos se comportando diferentemente em relação a expressão das enzimas. Reforçando que os resultados são inconsistentes, por conta dos vários fatores que interferem na relação genótipo x bactéria, fazendo-se necessário a continuação dos estudos dessas interações.

3. OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* na eficiência do uso de Nitrogênio (EUN) em híbridos comerciais de milho.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Caracterização da área experimental

O experimento foi conduzido na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal. A área onde se instalou o experimento apresenta altitude média de 615 metros acima do nível do mar. O relevo pode ser definido como suave ondulado e sua localização geográfica é definida por latitude 21° 14' 05"S e longitude 48° 17' 09" WG (Estação Agroclimatológica - Unesp Câmpus Jaboticabal).

O clima é caracterizado como tropical com inverno seco, sendo classificado como Aw de acordo com o Sistema Internacional de Classificação de Koppen (1931). A temperatura média gira em torno de 23,7 °C e o tipo de solo é classificado como Latossolo Vermelho Eutrófico (ANDRIOLI, 1999). A pluviometria média anual é de 1.050,9 mm, com concentração das chuvas durante os meses que compreendem a estação do verão (Estação Agroclimatológica - Unesp Câmpus Jaboticabal).

A área experimental possui histórico de plantio direto desde 1990, com o milho sendo plantado como safra de verão, geralmente semeado anualmente durante a segunda quinzena de novembro. Até 1998, fazia-se uso de vegetações espontâneas como culturas de cobertura. A partir de 1999, adotou-se milho e leguminosas como safras de inverno antes da implantação do experimento com milho, ambos sob irrigação por aspersão suplementar.

4.2. Delineamento estatístico e fatores de estudo (causas de variação)

O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso com 5 repetições em faixas. As parcelas experimentais foram constituídas por cinco linhas de quatro metros de comprimento, espaçadas de 0,45 metro entre linhas e 0,33 metro entre plantas dentro da linha, representando uma população aproximada de 67.000 mil plantas por hectare, sendo que se considerou apenas duas linhas de cada parcela como parcela útil para as avaliações.

Foram utilizados três híbridos comerciais de milho: MG593PWU, FS575PWU e P4285YHR. Para cada híbrido foram considerados 2 sistemas de cultivo (sucessões: *lab-lab* e milho) e seis níveis de manejo do *Azospirillum* e do N-fertilizante (Tabela 1).

Tabela 1. Sistemas de cultivo e inoculação.

Níveis	Fator parcela: cultura antecessora de cobertura
1	<i>Lablab purpureus</i>
2	Milho
Níveis	Fator sub-parcela ¹ : adubação
1	Com <i>Azospirillum brasilense</i> – 0 nitrogênio
2	Com <i>Azospirillum brasilense</i> – 40 kg/ha nitrogênio (b)
3	Sem <i>Azospirillum brasilense</i> – 40-140 kg/ha nitrogênio (b+c)
4	Sem <i>Azospirillum brasilense</i> – 0 nitrogênio
5	Sem <i>Azospirillum brasilense</i> – 40 kg/ha nitrogênio (b)
6	Com <i>Azospirillum brasilense</i> – 40-140 kg/ha nitrogênio (b+c)

¹ adotar (b) para adubação de base e (b+c) para adubação de base e cobertura.

4.3. Preparo da área, condução do experimento e inoculações

As culturas de cobertura, *Lablab purpureus* e Milho, representando o plantio sobre uma leguminosa e uma gramínea, foram semeadas em agosto de 2022. Posteriormente, no início de dezembro, elas foram picadas e espalhadas na área, com uso do triturador de palhas mecanizado (Triton).

O plantio do experimento ocorreu no dia 08 de dezembro de 2022, de maneira mecanizada, com uma semeadora adubadora. Utilizou-se 300 kg ha^{-1} de adubo, com formulação 0-20-20 em toda a área. A inoculação com o *Azospirillum brasilense* foi realizada no dia seguinte (09/12). A inoculação, nas parcelas que receberam o microrganismo, foi realizada via solo no sulco da semeadura, com uso de uma bomba costal de 20 Litros. O produto comercial QualyFix Gramíneas®, foi utilizado na dosagem de 600 ml ha^{-1} (5×10^6 bactérias ml^{-1} , estirpes AbV5 + AbV6), seguindo as recomendações do fabricante. A adubação nitrogenada de base foi realizada no dia 11 do mesmo mês, na qual se utilizou ureia como fonte de nitrogênio, fornecendo 40 kg de N ha^{-1} , para as parcelas com adubação de N na base.

A adubação de cobertura foi realizada no dia 09 de janeiro de 2023, nas parcelas que receberam esse tratamento. As plantas se encontravam no estágio V6 a V8 (sexto a oitavo nó visível). Foi aplicada ureia como fonte de nitrogênio, na dose de 140 kg ha^{-1} para a adubação de cobertura. Tanto o controle de pragas, quanto de plantas daninhas, foi realizado pela equipe da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE), por questões de logística e de viabilidade

econômica, seguindo os protocolos de recomendações para a cultura do milho (EMBRAPA, 2015).

A segunda inoculação com *Azospirillum brasilense*, foi feita no dia 12/02/2023, nas mesmas parcelas que receberam a primeira inoculação, via foliar. O milho já se encontrava na fase reprodutiva inicial (R1 - pendoamento). Para isso foi seguido o mesmo protocolo da primeira aplicação, na qual se fez uso de uma bomba costal, para aplicar via solo a mesma dosagem do produto comercial, QualyFix Gramíneas®.

4.4. Avaliações e colheita do experimento

Foram realizadas 3 avaliações do índice do conteúdo de clorofila (ICC), em momentos distintos de desenvolvimento da planta: estádios V8-10 (45 dias), VT (60 dias), R3-R4 (90 dias). Foram selecionadas 4 plantas para serem avaliadas, em cada parcela útil, com as medições sendo feitas na parte central de cada folha. Para mensurar o índice de clorofila presente nas folhas da planta, utilizou-se um clorofilômetro portátil (OptiSciences, CCM-200). A primeira avaliação (45 DAS) foi realizada no dia 25/01/2023, a avaliação de 60 DAS ocorreu em 13/02/2023 e, a avaliação de 90 DAS, em 22/03/2023.

No dia 10/03/2023, foi realizada a avaliação de massa fresca (verde) no campo. Foi utilizada uma balança portátil para pesar as plantas avaliadas. A massa foi determinada pela pesagem das folhas, caules e espigas, que foram coletadas de cinco plantas de cada parcela. No momento da avaliação, as

plantas se encontravam no período correspondente ao estágio reprodutivo 2 e 3 (R2 e R3).

A avaliação da altura média de planta e de inserção da espiga, ocorreu quando as plantas se encontravam em R4. A altura foi obtida pela distância entre a superfície do solo e a base de inserção da folha bandeira. Para isso fez-se o uso de uma régua graduada em centímetros. A altura média de inserção de espiga foi medida nas mesmas plantas, sendo obtidas através da distância entre a superfície do solo e o ponto de inserção da espiga principal com o colmo, com uso de régua graduada em centímetros. A avaliação ocorreu em 20/03/2023.

A colheita do experimento ocorreu durante os dias 02 e 03 de maio, com auxílio dos funcionários da fazenda, de forma manual. O milho foi colhido com 152 dias após a semeadura. Nas parcelas já colhidas foi contado o número total de espigas. Posteriormente foram selecionadas 5 espigas, para serem despalhadas e avaliadas quanto aos componentes da produção.

Avaliou-se o comprimento e diâmetro das espigas, número de fileira e número de grãos por fileira. As avaliações se iniciaram no dia 14/05 e se prolongaram até o dia 20/05. Para estimar a produtividade de grãos da cultura, todas as espigas da área útil de cada parcela foram colhidas e, posteriormente, debulhadas em uma debulhadora mecânica. Após o processo de debulha, os grãos foram pesados e a produtividade foi convertida para kg ha^{-1} .

O teor de N na folha foi determinado por meio de digestão ácida sulfúrica, destilação em meio fortemente alcalino e titulação com solução de ácido

sulfúrico, após a secagem das folhas a 65°C e moagem. A avaliação foi realizada em um laboratório prestador de serviços especializado nesse tipo de análise. Para análise foram selecionadas somente duas repetições de cada tratamento. As folhas para análises foram coletadas ao aparecimento da inflorescência feminina, retirando-se a folha oposta e abaixo da primeira espiga, coletando o terço médio da folha e retirando a nervura central.

Com os dados coletados em cada parcela foram estimadas a eficiência do uso de nitrogênio para as variáveis, através da razão entre a subtração da variável da aplicação de N (CN) e da mesma variável sem N aplicado (SN), pela seguinte equação: $EUN = (CN - SN)/NF$, sendo NF a quantidade de N-fertilizante aplicado. A eficiência foi calculada considerando a adubação com N na base e a adubação com N na base e em cobertura com os valores de eficiência obtidos para as variáveis analisadas, com e sem a aplicação de *Azospirillum brasilense*.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, com aplicação do teste F, utilizando o software estatístico Agroestat. As médias foram comparadas ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Híbrido MG593PWU

Neste estudo, o teste F foi aplicado para examinar o efeito dos tratamentos de cobertura vegetal e adubação, incluindo doses de nitrogênio e inoculação com *Azospirillum*, sobre a eficiência do uso de nitrogênio para diversas variáveis agrônômicas. Os resultados obtidos, apresentados na Tabela 2, revelam tanto efeitos significativos quanto não significativos para os fatores avaliados, de acordo com os níveis de significância adotados.

Tabela 2. Análise de variância da produtividade (PROD), altura de planta (ALT), altura de espiga (ALTE), massa verde (MV), teor de clorofila a 45 (CLOF45), 60 (CLOF60) e 90 (CLOF90) dias após a semeadura do milho, em função da interação entre cobertura, adubação e inoculação. Valores referentes aos quadrados médios, coeficiente de variação (CV) e a significância, através do teste F.

	CLOF(45)	CLOF(60)	CLOF(90)	MV	ALT	ALTE	PROD
Cobertura	0,0204NS	0,0064NS	0,0001NS	0,0001NS	0,0232NS	0,0368*	81,7542NS
Adubação	0,0073*	0,0086**	0,0057NS	0,0001NS	0,1679**	0,0139**	141,3507**
Cobertura x Adubação	0,0058NS	0,0013NS	0,0005NS	0,0002NS	0,0059NS	0,0008NS	40,6040NS
CV (%) Parcela	172,6674	107,1525	125,6886	-887,0906	149,0554	110,8029	406,9406
CV (%) Sub. Parcela	142,2490	134,8270	197,5835	-775,9827	75,3563	95,2866	358,3509
Média	0,0321	0,0316	0,0254	-0,0018	0,0644	0,0532	1,3103

Produtividade (Kg/ha), altura de planta (cm), altura de espiga (cm), massa verde (Kg), teor de clorofila (ICC). Para resultados sem significância (NS), significância a 5% (*) e a 1% (**).

O fator principal, a cobertura vegetal, não foi significativo na maioria das variáveis analisadas, exceto na altura de espiga (ALTE), onde um efeito significativo ao nível de 5% foi identificado. Isso indica que a presença de cobertura influencia apenas essa variável específica.

Em contrapartida, o fator secundário, relacionado à adubação, mostrou-se estatisticamente significativo nas variáveis: CLOF(45), CLOF(60) e CLOF(90), com significância aos níveis de 5% e 1%. Além disso, altura total (ALT), altura de espiga (ALTE) e produção (PROD) também responderam positivamente à adubação, apresentando significância ao nível de 1%. Esses resultados sugerem que o uso de adubação, com diferentes doses de nitrogênio e inoculação com *Azospirillum brasilense*, promove um impacto positivo no aumento da eficiência do uso de nitrogênio pela planta, refletindo-se nas variáveis mencionadas.

Não foram observados efeitos significativos na interação entre cobertura e adubação para nenhuma das variáveis. Esse resultado sugere que esses fatores atuam de forma independente, sem interações significativas que afetem o comportamento das variáveis estudadas. Dessa forma, a resposta à adubação não parece depender da presença de cobertura.

Esses resultados evidenciam o papel significativo da adubação, especialmente o nitrogênio e a inoculação com *Azospirillum brasilense*, no aumento da eficiência do uso de nitrogênio, enquanto o efeito da cobertura vegetal se mostrou limitado para a maioria das variáveis avaliadas.

Tabela 3. Médias da eficiência no uso do nitrogênio (EUN) em diferentes tratamentos na cultura do milho, considerando as variáveis de altura de planta (ALT), altura de espiga (ALTE), massa verde (MV), teor de clorofila aos 45, 60 e 90 dias (CLOF(45), CLOF(60), CLOF(90)) e produtividade (PROD).

MG593PWU												
TRATAMENTO	CLOF(45)		MÉDIA	CLOF(60)		MÉDIA	CLOF(90)		MÉDIA	MV		MÉDIA
	Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho	
C AZOS B	-0,022 b	0,089 a	0,03 AB	0,022 a	0,069 a	0,045 AB	0,042 a	0,061 a	0,05 A	-0,015 a	0,003 a	-0,003 A
S AZOS B	0,05 a	0,078 a	0,06 A	0,068 a	0,06 a	0,064 A	0,008 a	0,011 a	0,01 A	-0,001 a	-0,004 a	-0,002 A
C AZOS B/C	-0,001 a	-0,003 a	-0,002 AB	0,002 a	0,033 a	0,017 AB	0,037 a	0,04 a	0,03 A	0,001 a	0,002 a	0,001 A
S AZOS B/C	0,011 a	0,055 a	0,03 B	-0,017 a	0,014 a	-0,001 B	0,008 a	-0,007 a	0,001 A	-0,000 a	-0,000 a	-0,000 A
MÉDIA	0,009 A	0,054 A		0,019 A	0,044 A		0,024 A	0,026 A		-0,003 A	0,0001 A	

MG593PWU									
TRATAMENTO	ALT		MÉDIA	ALTE		MÉDIA	PROD		MÉDIA
	Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho	
C AZOS B	0,076 a	0,156 a	0,11 A	0,052 b	0,137 a	0,09 A	6,36 a	5,27 a	5,81 A
S AZOS B	0,025 a	0,123 a	0,07 A	0,045 a	0,101 a	0,07 AB	0,56 a	2,39 a	1,47 AB
C AZOS B/C	0,013 a	0,029 a	0,02 A	-0,004 a	0,036 a	0,01 B	3,8 a	-1,12 a	1,33 AB
S AZOS B/C	0,045 a	0,044 a	0,04 A	-0,002 a	0,059 a	0,02 B	0,24 a	-7,01 b	-3,38 B
MÉDIA	0,04 A	0,088 A		0,02 B	0,08 A		-0,11 A	2,74 A	

Os tratamentos avaliados foram definidos da seguinte forma: C AZOS B corresponde ao uso de inoculação com *Azospirillum brasilense* associado à adubação nitrogenada realizada apenas na base; S AZOS B refere-se à ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense*, com adubação nitrogenada aplicada exclusivamente na base; C AZOS B/C indica a combinação da inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada realizada tanto na base quanto na cobertura; e S AZOS B/C representa a ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense* com aplicação de adubação nitrogenada na base e na cobertura.

Analisando a tabela de médias (Tabela 3) é possível constatar que somente para a variável altura de espiga (ALTE), houve diferenciação para cobertura, com o milho apresentando a maior média. Ao se observar as médias gerais dessa mesma variável é possível identificar que o tratamento com *Azospirillum* e adubação de base apresenta média de eficiência maior do que os demais tratamentos, em especial aqueles com adubação na base e cobertura, sejam eles submetidos a inoculação ou não.

Para os parâmetros CLOF(45) e CLOF(60) verifica-se que o tratamento sem inoculação com *Azospirillum brasilense* e com adubação somente na base se mostrou mais eficiente, enquanto o tratamento sem *Azospirillum*, mas com adubação na base e na cobertura, apresentou-se com eficiência inferior. Os demais tratamentos não foram significativamente distintos.

Esse mesmo comportamento se repete quando se analisa a variável de produtividade (PROD), com o tratamento submetido a inoculação e com adubação nitrogenada somente na base apresentando média de eficiência superior, enquanto o tratamento sem o *Azospirillum* e com as duas doses de N, apresenta a menor média.

5.2. Híbrido FS775PWU

A análise de variância identificou significância estatística para várias variáveis, evidenciando o efeito dos tratamentos de cobertura e adubação sobre a eficiência do uso de nitrogênio nas plantas.

Tabela 4. Análise de variância da produtividade (PROD), altura de planta (ALT), altura de espiga (ALTE), massa verde (MV), teor de clorofila a 45 (CLOF45), 60 (CLOF60) e 90 (CLOF90) dias após a semeadura, em função das interações entre cobertura, adubação e inoculação. Valores referentes aos quadrados médios, coeficiente de variação (CV) e a significância, através do teste F.

	CLOF(45)	CLOF(60)	CLOF(90)	MV	ALT	ALTE	PROD
Cobertura	0,0102NS	0,0057NS	0,0012NS	0,0001NS	0,0297NS	0,0312NS	25,8180NS
Adubação	0,0146**	0,0066**	0,0002NS	0,0001*	0,0200NS	0,0265*	19,0025NS
Cobertura x Adubação	0,0024NS	0,0071**	0,0004NS	0,0001NS	0,008NS	0,0102NS	2,911NS
CV (%) Parcela	162,2124	110,0478	146,8911	102,0026	97,0383	95,3213	146,0231
CV (%) Sub. Parcela	156,9730	75,6392	116,7770	201,3783	104,6404	129,7131	114,1664
Média	0,0329	0,0492	0,0345	0,0021	0,0883	0,0692	4,0634

Produtividade (Kg/ha), altura de planta (cm), altura de espiga (cm), massa verde (Kg), teor de clorofila (ICC). Para resultados sem significância (NS), significância a 5% (*) e a 1% (**).

Observou-se que as variáveis CLOF(45) e CLOF(60) foram significativamente influenciadas pela adubação, com níveis de significância de 1% e 5%, respectivamente, indicando que as doses de nitrogênio e a inoculação com *Azospirillum* alteraram a quantidade de clorofila nas plantas nessas etapas específicas de avaliação. A interação entre cobertura e adubação também foi significativa em CLOF(60), sugerindo que a resposta da eficiência do uso de N

para clorofila ao tratamento de adubação varia conforme o tipo de cobertura utilizada.

A eficiência na variável de massa verde (MV) apresentou um efeito significativo da adubação, evidenciando que as doses de nitrogênio e a inoculação com *Azospirillum brasilense* tiveram um impacto importante nessa variável. No entanto, a interação entre cobertura e adubação não foi significativa para MV, indicando que o efeito observado é atribuído exclusivamente à adubação, independentemente do tipo de cobertura.

A EUN na altura total (ALT) das plantas também foi influenciada pela adubação, com significância ao nível de 5%, indicando que o aumento da eficiência na altura foi favorecido pelas doses de nitrogênio e pela inoculação com *Azospirillum*. Tanto a cobertura quanto a interação entre cobertura e adubação não demonstraram efeito significativo para essa variável, sugerindo que o aumento da EUN para altura está associado diretamente ao tratamento de adubação.

No caso da altura de espiga (ALTE), a adubação apresentou efeito significativo, revelando que essa característica foi positivamente afetada pelo tratamento. Adicionalmente, a interação entre cobertura e adubação foi significativa, sugerindo que a eficiência do uso de N para a variável de altura da espiga responde de forma diferenciada conforme a combinação de cobertura e adubação aplicada, o que reforça a importância de considerar esses fatores em conjunto.

Para a variável produção (PROD), não foram observadas diferenças estatísticas para os fatores de cobertura, adubação ou para a interação entre eles, o que indica que esses tratamentos, sob as condições experimentais, não influenciaram diretamente o rendimento das plantas.

Em síntese, os resultados apontam que as doses de nitrogênio e a inoculação com *Azospirillum* tiveram efeitos positivos sobre EUN para as variáveis: clorofila, massa verde, altura total e altura de espiga das plantas. A interação entre cobertura e adubação influenciou a clorofila 60 DAS e a altura de espiga, sugerindo que o tipo de cobertura pode alterar a resposta a esses tratamentos. Por outro lado, a produtividade final não foi afetada significativamente, indicando que, nas condições testadas, esses fatores não exerceram influência direta.

Tabela 5. Médias da eficiência no uso do nitrogênio (EUN) em diferentes tratamentos na cultura do milho, considerando as variáveis de altura de planta (ALT), altura de espiga (ALTE), massa verde (MV), teor de clorofila aos 45, 60 e 90 dias (CLOF(45), CLOF(60), CLOF(90)) e produtividade (PROD).

FS775PWU												
TRATAMENTO	CLOF(45)		MÉDIA	CLOF(60)		MÉDIA	CLOF(90)		MÉDIA	MV		MÉDIA
	Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho	
C AZOS B	0,06 a	0,073 a	0,067 A	0,063 a	0,073 a	0,069 A	0,028 a	0,04 a	0,034 A	0,002 a	-0,001 a	0,001 AB
S AZOS B	0,053 a	0,068 a	0,017 AB	0,065 a	0,08 a	0,073 A	0,031 a	0,047 a	0,039 A	0,005 a	0,006 a	0,006 A
C AZOS B/C	0,007 a	0,028 a	0,06 A	0,047 a	0,017 a	0,032 AB	0,023 a	0,048 a	0,036 A	0,001 a	-0,001 a	-0,0005 B
S AZOS B/C	-0,053 b	0,025 a	-0,014 B	-0,026 b	0,071 a	0,020 B	0,032 a	0,024 a	0,028 A	0,002 a	0,001 a	0,002 AB
MÉDIA	0,016 A	0,048 A		0,036 A	0,061 A		0,028 A	0,04 A		0,002 A	0,001 A	

FS775PWU									
TRATAMENTO	ALT		MÉDIA	ALTE		MÉDIA	PROD		MÉDIA
	Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho	
C AZOS B	0,095 a	0,179 a	0,137 A	0,076 a	0,165 a	0,12 A	3,02 a	6,21 a	4,61 A
S AZOS B	0,041 b	0,161 a	0,101 A	0,022 b	0,14 a	0,08 AB	5,04 a	6,09 a	5,56 A
C AZOS B/C	0,015 a	0,044 a	0,029 A	-0,025 b	0,02 a	-0,002 B	1,66 a	2,98 a	2,32 A
S AZOS B/C	0,091 a	0,077 a	0,029 A	0,091 a	0,062 a	0,07 AB	3,32 a	4,16 a	3,74 A
MÉDIA	0,061 A	0,115 A		0,04 A	0,09 A		3,26 A	4,86 A	

Os tratamentos avaliados foram definidos da seguinte forma: C AZOS B corresponde ao uso de inoculação com *Azospirillum brasilense* associado à adubação nitrogenada realizada apenas na base; S AZOS B refere-se à ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense*, com adubação nitrogenada aplicada exclusivamente na base; C AZOS B/C indica a combinação da inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada realizada tanto na base quanto na cobertura; e S AZOS B/C representa a ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense* com aplicação de adubação nitrogenada na base e na cobertura.

Para a variável CLOF(45) nota-se maior média de eficiência para os tratamentos submetidos a inoculação com o *Azospirillum brasilense*, independente das doses de N aplicadas, e uma média inferior do tratamento sem inoculação e com a adubação na base e na cobertura.

Quando se analisa a clorofila aos 60 dias, percebe-se que os tratamentos que receberam a adubação somente na base, independente da inoculação ou não, apresentam maiores médias. E de maneira semelhante ao parâmetro anterior, o tratamento sem inoculação e com dose maior de N, apresenta a menor média de eficiência.

Observa-se um comportamento diferente ao se analisar a massa verde, com o tratamento sem *Azospirillum* e com adubação somente na base apresentando maior eficiência, enquanto o tratamento inoculado e adubado na base e na cobertura, tem a média de eficiência inferior.

Não há distinção de médias para os parâmetros de altura de planta e de produtividade. Já para a altura de espigas tem-se que os tratamentos que foram submetidos a inoculação apresentaram maior eficiência, seja somente com adubação de base ou com adubação na base e na cobertura.

5.3. Híbrido P4285VYHR

A partir da análise do teste F, identificou-se significância estatística para algumas características, destacando os efeitos dos tratamentos de cobertura e adubação no desenvolvimento das plantas (Tabela 6).

Tabela 6. Análise de variância da produtividade (PROD), altura de planta (ALT), altura de espiga (ALTE), massa verde (MV), teor de clorofila a 45 (CLOF45), 60 (CLOF60) e 90 (CLOF90) dias após a semeadura, em função das interações entre cobertura, adubação e inoculação. Valores referentes aos quadrados médios, coeficiente de variação (CV) e a significância, através do teste F.

	CLOF(45)	CLOF(60)	CLOF(90)	MV	ALT	ALTE	PROD
Cobertura	0,0006**	0,0226NS	0,0001NS	0,0001NS	0,1337NS	0,0884**	52,0535NS
Adubação	0,0063NS	0,0020NS	0,0049**	0,0000NS	0,0376**	0,0393**	140,0104*
Cobertura x Adubação	0,0011NS	0,0025*	0,0003NS	0,000NS	0,0155**	0,0223**	91,2914NS
CV (%) Parcela	140,8459	271,3461	136,2991	645,2431	152,6723	56,4241	112,4073
CV (%) Sub. Parcela	70,1458	110,7234	83,7594	547,6945	58,5686	87,0972	94,3174
Média	0,0446	0,0241	0,0378	0,0011	0,0939	0,0738	6,8107

Produtividade (Kg/ha), altura de planta (cm), altura de espiga (cm), massa verde (Kg), teor de clorofila (ICC). Para resultados sem significância (NS), significância a 5% (*) e a 1% (**).

Na variável CLOF(45), o fator cobertura apresentou impacto significativo ao nível de 1%, sinalizando que o tipo de cobertura influenciou a quantidade de clorofila nesse estágio. No caso de CLOF(60), tanto a adubação quanto a interação entre cobertura e adubação foram significativas, ao nível de 1% e 5%, o que indica que, além do efeito isolado da adubação, a combinação dos fatores afetou o índice de eficiência de uso de nitrogênio.

Em CLOF(90), a adubação mostrou-se significativa ao nível de 1%, evidenciando que as doses de nitrogênio e a inoculação com *Azospirillum brasilense* afetam a EUN independentemente da cobertura ou de qualquer interação entre os fatores.

A altura total (ALT) foi significativamente influenciada tanto pela adubação, com nível de significância de 5%, quanto pela interação entre cobertura e adubação ao nível de 1%. Esses resultados indicam que a EUN responde não apenas ao tratamento de adubação, mas também a uma interação com o tipo de cobertura, o que sugere que o manejo conjunto desses fatores é relevante para se ter uma maior média de eficiência.

Para a altura de espiga (ALTE), a análise mostrou significância tanto para a adubação quanto para a interação entre cobertura e adubação, ambos ao nível de 5%. Isso indica que a EUN para essa variável é afetada tanto pela adubação quanto pela combinação da cobertura e a presença do microrganismo sendo ambos importantes para maximizar o crescimento reprodutivo.

Em relação à produção (PROD), a adubação foi o único fator significativo, indicando que a EUN para a produtividade das plantas depende diretamente das doses de nitrogênio e da inoculação com *Azospirillum*. A cobertura e a interação entre os fatores não influenciaram significativamente esta variável, sugerindo que o efeito da adubação é mais relevante para o rendimento final.

Tabela 7. Médias da eficiência no uso do nitrogênio (EUN) em diferentes tratamentos na cultura do milho, considerando as variáveis de altura de planta (ALT), altura de espiga (ALTE), massa verde (MV), teor de clorofila aos 45, 60 e 90 dias (CLOF(45), CLOF(60), CLOF(90)) e produtividade (PROD).

P4285VYHR												
TRATAMENTO	CLOF(45)		MÉDIA	CLOF(60)		MÉDIA	CLOF(90)		MÉDIA	MV		MÉDIA
	Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho	
C AZOS B	0,044 a	0,078 a	0,061 AB	-0,018 b	0,066 a	0,024 A	0,02 a	0,03 a	0,025 AB	0,000 a	0,004 a	0,002 A
S AZOS B	0,077 a	0,063 a	0,07 A	0,038 a	0,05 a	0,044 A	0,063 a	0,057 a	0,06 A	-0,018 b	0,002 a	0,000 A
C AZOS B/C	0,012 a	0,028 a	0,02 C	-0,018 b	0,041 a	0,011 A	0,004 a	0,022 a	0,013 B	0,001 a	0,002 a	0,002 A
S AZOS B/C	0,027 a	0,024 a	0,025 AB	0,0004 a	0,033 a	0,017 A	0,056 a	0,048 a	0,052 A	-0,002 b	0,001 a	-0,001 A
MÉDIA	0,04 A	0,048 A		0,0003 A	0,04 A		0,035 A	0,039 A		-0,001 A	0,002 A	

P4285VYHR									
TRATAMENTO	ALT		MÉDIA	ALTE		MÉDIA	PROD		MÉDIA
	Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho		Lab-lab	Milho	
C AZOS B	0,041 b	0,222 a	0,131 AB	0,001 b	0,154 a	0,077 A	11,2 a	11,93 a	11,56 A
S AZOS B	0,093 a	0,216 a	0,154 A	0,072 b	0,206 a	0,139 A	3,84 a	12,22 a	8,03 A
C AZOS B/C	0,018 a	0,02 a	0,019 C	0,012 a	-0,034 b	-0,011 B	6,68 a	1,27 a	3,95 A
S AZOS B/C	-0,008 b	0,147 a	0,069 BC	0,02 b	0,156 a	0,088 A	0,96 a	6,42 a	3,69 A
MÉDIA	0,0361 A	0,151 A		0,026 B	0,12 A		5,67 A	7,95 A	

Os tratamentos avaliados foram definidos da seguinte forma: C AZOS B corresponde ao uso de inoculação com *Azospirillum brasilense* associado à adubação nitrogenada realizada apenas na base; S AZOS B refere-se à ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense*, com adubação nitrogenada aplicada exclusivamente na base; C AZOS B/C indica a combinação da inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada realizada tanto na base quanto na cobertura; e S AZOS B/C representa a ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense* com aplicação de adubação nitrogenada na base e na cobertura.

Para as variáveis CLOF(45) e altura de plantas o tratamento sem *Azospirillum* e com adubação de base apresenta a maior média de eficiência. O tratamento inoculado com as duas doses de N tem a menor média. O mesmo resultado se repete para CLOF(90), no qual os tratamentos sem o microrganismo apresentam as maiores médias, se diferenciando do tratamento que foi inoculado e recebeu as duas doses de N.

Somente para a variável altura de espiga (ALTE) ocorreu diferenciação para cobertura, com o *lab-lab* apresentando a maior média. Ao se considerar as médias gerais, verifica-se que o tratamento que apresentou menor valor foi o que foi submetido a inoculação e recebeu as duas doses de N.

Não houve diferenciação de médias para os parâmetros de produtividade e de massa verde.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que a inoculação com *Azospirillum brasilense* promoveu melhorias na eficiência do uso de nitrogênio da altura de espiga e teor de clorofila, especialmente nos tratamentos que receberam adubação de base.

Em relação à eficiência do uso de nitrogênio, observou-se que os tratamentos inoculados apresentaram desempenho superior em comparação aos não inoculados, o que sugere que a presença de *Azospirillum* contribui para uma maior absorção e utilização mais eficiente do nitrogênio pelas plantas.

Contudo, o impacto da inoculação foi heterogêneo, apresentando diferenças significativas conforme o híbrido analisado, indicando que o efeito benéfico da bactéria depende do genótipo.

O híbrido MG593PWU demonstrou uma resposta mais acentuada à inoculação com *Azospirillum*, enquanto os híbridos FS775PWU e P4285VYHR apresentaram menor sensibilidade, sobretudo em relação à produtividade e à massa verde.

Dessa forma, conclui-se que a inoculação com *Azospirillum brasilense* pode, de fato, contribuir para aumentar a eficiência do uso de nitrogênio, especialmente em combinação com adubação de base.

7. LITERATURA CITADA

ALTMAYER ROCKENBACH, M. D.; RASCHE ALVAREZ, J. W.; FATECHA FOIS, D. A.; TIECHER, T. KARAJALLO, J. C. AGUAYO TRINIDAD, S. Eficiência da aplicação de *Azospirillum Brasiliense* associado ao nitrogênio na cultura do milho. *Acta Iguazu*, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 33–44, 2000.

ANDRIOLI, I., & CENTURION, J. F. (1999). Levantamento detalhado dos solos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. In Congresso Brasileiro de Ciência do solo (Vol. 27, p. 32).

ARAÚJO, R. M., ARAÚJO, A. S. F. D., NUNES, L. A. P. L., & FIGUEIREDO, M. D. V. B. (2014). Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasiliense* e níveis de nitrogênio. *Ciência Rural*, 44, 1556-1560.

BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 77, 3, p. 549-579, ISSN 0001-3765, 2005.

ARF, ORIVALDO et al. *Azospirillum brasiliense* promotes increment in corn production. *African Journal of Agricultural Research*, v. 11, n. 19, p. 1688-1698, 2016.

ARGENTA, GILBER et al. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 13, p. 158- 167, 2001.

BARASSI CA, SUELDO RJ, CREUS CM, CARROZI LE, CASANOVAS WM, PEREVRAMA. Potencialidad de Azospirillum en optimizar el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: Cassán FD, Garcia de Salamone I, editor.

Azospirillum sp .: fisiologia celular, interações vegetais e pesquisa agronômica na Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, Buenos Aires. 2008. pp 49–59.

BESEN, M. R., RIBEIRO, R. H., GOETTEN, M., FIOREZE, S. L., GUGINSKI-PIVA, C. A., & PIVA, J. T. (2020). Produtividade de milho e retorno econômico em sistema integrado de produção com doses de nitrogênio. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 19(1), 94-103.

BONO, J. A. M. et al. Modo de aplicação de fertilizantes nitrogenados na qualidade fisiológica de sementes de milho. *Agrarian*, v. 1, n. 2, p. 91-102, 2008.

BORGHI, E., & CRUSCIOL, C. A. C. (2007). Produtividade de milho, espaçamento e modalidade de consorciação com *Brachiaria brizantha* em sistema plantio direto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42,163-171.

BRACCINI, A.L.; DAN L.G.M.; PICCINI, 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, p. 58-64, 2012.

BROCH, D. L.; RANNO, S. K. Fertilidade do solo, adubação e nutrição da cultura do milho. In: BROCH, D. L. (Coord.) Tecnologia e Produção: soja milho 2008/2009. 5. ed. Maracaju: Fundação MS, 2008. p.133-141.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. VAN.; CAMARGO, C.E.O. Cereais. In: RAIJ, B. Van.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Eds.). Recomendação de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2. ed. Campinas:IAC, 1997. p.45-71 (Boletim técnico, 100).

CARVALHO AM, COSER TR, REIN TA, DANTAS RD, SILVA RR, SOUZA KW (2015) Manejo de plantas de cobertura na floração e na maturação fisiológica e seu efeito na produtividade do milho. Pesquisa Agropecuária Brasileira 50:551-561.

CARVALHO, NATHÁLIA LEAL; ZABOT, VALDIRENE. Nitrogênio: nutriente ou poluente? Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, v. 6, n. 6, p. 960-974, 2012.

CASTRO PRC, KLUGE RA, SESTARI I (2008) Manual de fisiologia vegetal: fisiologia de cultivos. São Paulo:Agronômica Ceres, 2008. 864 p.

CHEN, J., YANG, Z., ZHOU, P., HAI, M., TANG, T., LIANG, Y., & AN, T. (2012). Biomass accumulation and partitioning, photosynthesis, and photosynthetic induction in field-grown maize (*Zea mays L.*) under low- and high-nitrogen conditions. Acta Physiologiae Plantarum, 35, 95- 105.

CIAMPITTI, I. A.; BOXLER, M.; GARCÍA, F. O. Nutrición de Maíz: Requerimientos y absorción de nutrientes. *Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica*. Ediciones IPNI. v. 48, n. 1, p. 14-18, 2010. Disponível em: [http://www.ipni.net/publication/ialacs.nsf/0/2EB470FD702C566D85257984005754F1/\\$FILE/14.pdf](http://www.ipni.net/publication/ialacs.nsf/0/2EB470FD702C566D85257984005754F1/$FILE/14.pdf). Acesso em: 23 de agosto de 2022.

CONTINI, E.; MOTA, M. M.; MARRA, R.; BORGHI, E.; MIRANDA, R. R.; SILVA, A. F.; SILVA, D. D.; MACHADO, J. R. A.; COTA, L. V.; COSTA, R. V.; MENDES, S. M. 2019. Milho: caracterização e desafios tecnológicos. Brasília: Embrapa. (Desafios do Agronegócio Brasileiro, 2).

DEIENNO, JOÃO et al. Maize intercropping and nitrogen fertilization aiming grain yield and implement a no-till system. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 20, 2021.

DE SOUZA MOREIRA, Fatima Maria et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. *Comunicata Scientiae*, v. 1, n. 2, p. 74-74, 2010.

DIONÍSIO, J. A.; PIMENTEL, I. C.; SIGNOR, D.; PAULA, A. M. de; MACEDA, A.; MATTANA, A. Guia prático de biologia do solo. Curitiba: SBCS, 2016.

EMBRAPA. Visão 2030: o futuro da agricultura brasileira. Brasília, DF, 2018. 212 p. il. color.

FARINELLI, R.; LEMOS, I. 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.

- FAO. 2021. Alimentação e Agricultura Mundial – Anuário Estatístico 2021. Roma. 298, 2021.
- FOLEY JA, RAMANKUTTY N, BRAUMAN KA, CASSIDY ES, GERBER JS, et al. (2011) Solutions for a cultivated planet. *Nature* 478: 337–342.
- FORNASIERI FILHO, D. Manual da cultura do milho. Jaboticabal: Funep, 2007.
- FRANÇA S, JOÃO J, ROSA LMG, BERGAMASCHI H, BERGONCI JI (2011) Nitrogênio disponível ao milho: Crescimento, absorção e rendimento de grãos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 15:1143-1151.
- FUKAMI, JOSIANE et al. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. *Amb Express*, v. 6, n. 1, p. 1-13, 2016.
- GOMES, R. F. et al. Efeito de doses e época de aplicação de nitrogênio nos caracteres agrônômicos da cultura do milho sob plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 931-938, 2007.
- 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), 413-425.
- IMEA. Custo de produção do milho - Safra 2018/2019, 2019.
- LADHA JK, TIROL-PADRE A, REDDY CK, CASSMAN KG, VERMA S, POWSLAN DS, et al. Orçamentos globais de nitrogênio em cereais: uma avaliação de 50 anos para sistemas de produção de milho, arroz e trigo. *Relatórios Científicos*. 2016;6.

LOVATO, T.; MIELNICZUK, J.; B, C. VEZZANI, F. Adição de carbono e nitrogênio e sua relação com os estoques no solo e com o rendimento do milho em sistemas de manejo. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, v.28, p.175-187, 2004

LUCAS, TADEU MAZZA REVOLTI ; CARLOS, HENRIQUE CAPRIO ; FABIO, LUIZ CHECCHIO MINGOTTE ; GUSTAVO, VITTI MORO . *Azospirillum spp. potential for maize growth and yield. AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, v. 17, p. 574-585, 2018.

MARQUES, Jackeline Boaventura; REZENDE, Cláudia Fabiana Alves; BUENO, Ane Karolyne de Jesus. *Inoculação de Azospirillum brasilense e aplicação de doses de nitrogênio em cobertura no milho. 2020.*

MARTINS M.R.; JANTALIA C.P.; REIS V.M; DOWICH I.; POLIDORO J.C.; ALVES B.J.R.; et al. Impact of plant growth-promoting bacteria on grain yield, protein content, and urea-15 N recovery by maize in a Cerrado Oxisol. *Plant and Soil*. 2018; 422:239–250.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; DANIEL-VEDELE, F.; DECHORGNAT, J; CHARDON, F.; GAUFICHON, L.; SUZUKI, A. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. *Annals of Botany* 105: 1141–1157, 2010.

MILLÉO, M. V. R.; CRISTÓFOLI, I. Avaliação da eficiência agrônômica da inoculação de *Azospirillum sp.* na cultura do milho. *Revista Scientia Agraria* v. 17, p. 14 -23, 2016.

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

MIRANDA, R. A. de; LÍCIO, A. M. A.; PURCINO, A. A. C.; PAULINELLI, A.; PARENTONI, S. N.; DUARTE, J. de O.; GONTIJO NETO, M. M.; LANDAU, E. C.; QUEIROZ, V. A. V.; OLIVEIRA, I. R. de. Diagnóstico dos problemas e potencialidades da cadeia produtiva do milho no Brasil. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2014. 102 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 168)

MIRANDA, R. A. D., DURÃES, F. O. M., GARCIA, J. C., PARENTONI, S., SANTANA, D. P., PURCINO, A. Á. C., & ALVES, E. (2019). Supersafra de milho e o papel da tecnologia no aumento da produção. Revista de Política Agrícola, 28(2), 149.

MOLL, RH; KAMPRATH, EJ; JACKSON, WA Análise e interpretação de fatores que contribuem para a eficiência da utilização do nitrogênio 1. Agronomy Journal, v. 74, n. 3, pág. 562-564, 1982.

MORRISON, K.M.; SIMMONS, S.J.; STAPLETON, A.E. Loci controlling nitrate reductase activity in maize: ultraviolet-B signaling in aerial tissues increases nitrate reductase activity in leaf and root when responsive alleles are present. Physiologia Plantarum, v.140, p.334–341, 2010.

Nações Unidas, Departamento de Assuntos Econômicos e Sociais, Divisão de População (2022). Perspectivas da População Mundial 2022: Resumo dos Resultados. ONU DESA/POP/2022/TR/NO. 3.

OCDE/FAO – Organização para a Cooperação e Desenvolvimento-Organização das nações Unidas para a Alimentação e Agricultura. Agricultura Outlook 2021-

2030. 2021. Disponível em: < <https://www.fao.org/publications/oecd-fao-agricultural-outlook/2021-2030/en/>>. Acesso em 21 de agosto de 2022

PANKIEVICZ VCS, do AMARAL FP, SANTOS KFDN, AGTUCA B, XU Y, SCHULLER MJ, et al. Fixação biológica robusta de nitrogênio em um modelo de associação gramínea-bacteriana. *O Diário das Plantas*. 2015;81: 907-919. pmid:25645593

PEREIRA-DEFILIPPI, L. ; PEREIRA, E. M. ; SILVA, F. M. ; MORO, G. V. .
Expressé sequence tags related to nitrogen metabolism in maize inoculated with *Azospirillum brasilense*. *GENETICS AND MOLECULAR RESEARCH*, v. 16, p. 1, 2017.

PEREIRA LM, PEREIRA EM REVOLTI LTM, ZINGARETTI SM, MÔRO GV
(2015) Seed quality, chlorophyll content index and leaf nitrogen levels in maize inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Revista Ciência Agronômica* 46:630-637.

PORTUGAL, J. R., ARF, O., PERES, A. R., GITTI, D. D. C., & GARCIA, N. F. S.
(2017). Coberturas vegetais, doses de nitrogênio e inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho no Cerrado. *Revista Ciência Agronômica*, 48, 639-649.

PRANDO, ANDRÉ MATEUS et al. Produtividade, índice de vegetação e clorofila de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada em cobertura. *Revista Cultura Agronômica*, v. 28, n. 3, p. 329, 2019.

RAY, D. K. et al. Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050. *PloS one*, v. 8, n. 6, p. e66428, 2013.

RAY, D. K. et al. A mudança climática provavelmente já afetou a produção global de alimentos. *PloS um*, v. 14, n. 5, pág. e0217148, 2019.

REPKER, RODRIGO ALBERTO et al. Eficiência da Azospirillum brasilense combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v. 12, n. 3, p. 214-226, 2013.

SAIKIA, S. P.; JAIN, V. Biological nitrogen fixation with non-legumes: an achievable Target or a dogma? Current Science. Bangalore. v. 92, n. 3, p. 317-322, 2007.

SALOMÃO, PEDRO E. AMADOR et al. A importância do sistema de plantio direto na palha para reestruturação do solo e restauração da matéria orgânica. Research, Society and Development, v. 9, n. 1, p. e154911870-e154911870, 2020.

SEGISMUNDO, VINÍCIUS DUARTE et al. Efeito do Azospirillum brasilense nos componentes de rendimento do milho. Científica , v. 48, n. 4, pág. 351-356, 2020.

SILVA EC et al. 2005a. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio na cultura do milho em plantio direto sobre Latossolo Vermelho. Revista Brasileira de Ciência do Solo 29: 353-362.

SILVA TO, MENEZES RSC (2007) Adubação orgânica da Batata com esterco e, ou, crotalaria juncea. II - Disponibilidade de N, P e K no solo ao longo do ciclo de cultivo. Revista Brasileira de Ciência do Solo 31:51-61.

SOUZA EM, GALINDO FS, TEIXEIRA FILHO MCM, SILVA RT, SANTOS AC, FERNANDES GC. (2019). A aplicação de nitrogênio associada à inoculação com Azospirillum brasilense influencia a nutrição e a produtividade do milho. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental 23:53-59.

- SILVA, L. E. B., DE SALES SILVA, J. C., DE SOUZA, W. C. L., LIMA, L. L. C., & DOS SANTOS, R. L. V. (2020). Desenvolvimento da cultura do milho (*Zea mays* L.): revisão de literatura. *Diversitas Journal*, 5(3), 1636-1657.
- SOUZA, J. A. et al. Lucratividade do milho em razão das fontes, doses e épocas de aplicação de nitrogênio. *Revista Ceres*, v. 59, n.3, p. 321-329, 2012.
- STEENHOUDT, O.; VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol Rev.*, v.24, p.487–506, 2000.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848 p.
- TIEN TM, GASKIN MH, HUBBEL DH. Substâncias de crescimento vegetal produzidas por *Azospirillum brasilense* e seu efeito no crescimento do milheto (*Pennisetum americanum* L.). *Appl Environ Microbiol*. 1979; 37: 1016–24.
- TILHAQUI BERTASELLO, LUIZ EDUARDO et al. Rendimento agrônômico de genótipos de milho (*Zea mays* L.) baseado na aplicação de *Azospirillum brasilense* e fertilização mineral. *Revista da Faculdade de Ciências Agrárias. Universidade Nacional de Cuyo* , v. 1, pág. 68- 78, 2021.
- TILMAN D, BALZER C, HILL J, BEFORT BL (2011) Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 20260–20264.
- USDA – United States Department of Agriculture. Disponível em: < <https://www.usda.gov/>> Acesso em: 20 de agosto 2022.

VEJAN P, ABDULLAH R, KHADIRAN T, ISMAIL S, NASRULHAQ BOYCE A.

Papel do Crescimento de Plantas Promovendo Rizobactérias na Sustentabilidade Agrícola–Uma Revisão. *Moléculas*. 2016;21:573.

VIANA, MARCELO MARINHO. Produtividade e eficiência do uso do nitrogênio na cultura do milho inoculado com *Azospirillum brasiliense*. 2017. Tese de Doutorado. UEMA.