

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**RESPOSTA DO MILHO AO *Azospirillum brasilense*
EM DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO**

Guilherme Amâncio Vieira Grunewald

Engenheiro Agrônomo

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**RESPOSTA DO MILHO AO *Azospirillum brasilense*
EM DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO**

Discente: Guilherme Amâncio Vieira Grunewald

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Vitti Moro

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas)

G891r

Grunewald, Guilherme Amâncio Vieira

Resposta do milho ao *Azospirillum* Brasilense em diferentes sistemas de cultivo / Guilherme Amâncio Vieira Grunewald. -- Jaboticabal, 2021

34 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Gustavo Vitti Mõro

1. Plantas melhoramento genético. 2. Milho híbrido. 3. *Azospirillum* brasilense. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: RESPOSTA DO MILHO AO *Azospirillum brasilense* EM DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO

AUTOR: GUILHERME AMÂNCIO VIEIRA GRUNEWALD

ORIENTADOR: GUSTAVO VITTI MÔRO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. GUSTAVO VITTI MÔRO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Produção Vegetal) / FCAV / UNESP - Jaboticabal

p/ 
Profa. Dra. VIVIANE FORMICE VIANNA (Participação Virtual)
Faculdade de Tecnologia - FATEC / Jaboticabal/SP

p/ 
Prof. Dr. GUSTAVO HUGO FERREIRA DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
Universidade Federal de Sergipe / Nossa Senhora da Glória/SE

Jaboticabal, 30 de julho de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GUILHERME AMÂNCIO VIEIRA GRUNEWALD - Filho de Roseli Amâncio Vieira e Luis Fernando Grunewald Villanova, nasceu na cidade de Monte Carmelo-MG, no dia 01/10/1991. Em agosto de 2012 entrou no curso de agronomia na Universidade Federal de Lavras, com conclusão realizada em julho de 2017. Durante a graduação foi membro do grupo de sistema de plantio direto e do CIM (Centro de inteligência de mercado). Realizou estágio curricular obrigatório na empresa Rehagro, onde trabalhou com melhoramento de milho e pesquisas na área de grãos, com conclusão no ano de 2018.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Cultura do milho	3
2.2. Sistemas de cultivo	4
2.3. Bactérias diazotróficas	6
3. MATERIAL E MÉTODOS	6
3.1. Área experimental	6
3.2. Tratamentos e delineamento experimental	8
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
4.1. Híbrido 2B610PW.....	14
4.2. Híbrido 30AA37	17
4.3. Híbrido P4285YHR	21
5. CONCLUSÕES	28
6. REFERÊNCIAS	28

RESPOSTA DO MILHO AO *Azospirillum brasilense* EM DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO

RESUMO- Objetivou-se determinar o desempenho dos genótipos de milho em associação com o *Azospirillum brasilense* em diferentes sistemas de cultivo. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com 5 repetições em esquema de parcelas subdivididas. Foram avaliados três híbridos comerciais de milho em seis sistemas de produção, obtidos da combinação de épocas de aplicações de nitrogênio (sem aplicação, aplicação na semeadura e aplicação na semeadura e em cobertura) com duas culturas de cobertura antecessoras, milho e *Lablab purpureus*, com e sem *Azospirillum brasilense*. A inoculação com *Azospirillum brasilense* em plantas de milho, não afeta a produtividade, a altura de plantas, altura de espigas, a massa verde, a massa seca, o teor de clorofila e o teor de nitrogênio e apresentou interação com os sistemas de produção apenas para o teor de clorofila. A adoção desta prática não substitui o uso de fertilizantes nitrogenados e tampouco permite a redução da dose. A utilização de *Lablab purpureus* como planta de cobertura promove maior desenvolvimento das plantas de milho em sistema de plantio direto.

Palavras chave: bactérias diazotróficas, fixação biológica do nitrogênio, *Zea mays*

RESPONSE OF MAIZE TO *Azospirillum brasilense* IN DIFFERENT FARMING SYSTEMS

ABSTRACT - This study aimed to determine the performance of maize genotypes in association with *Azospirillum brasilense* in different cropping systems. The experimental design was randomized blocks with 5 replications in a split-plot scheme. Three commercial corn hybrids were evaluated in six production systems, obtained from the combination of different times of nitrogen application (no application, application at seeding and application at seeding and covering) with two predecessor cover crops, corn and *Lablab purpureus*, with and without *Azospirillum brasilense*. Inoculation with *Azospirillum brasilense* in maize plants does not affect yield, plant height, ear height, green mass, dry mass, chlorophyll content and nitrogen content and showed interaction with production systems only for the chlorophyll content. The adoption of this practice does not replace the use of nitrogen fertilizers, nor does it allow for a reduction in the dosage. The use of *Lablab purpureus* as a cover plant promotes greater development of corn plants under a no-tillage system.

Key words: diazotrophic bacteria, biological nitrogen fixation, *Zea mays*

1. INTRODUÇÃO

O milho é um dos cereais de maior importância mundial (Foster et al., 2016). A cultura no ano de 2020 alimentou uma população de mais de 630 milhões de pessoas em todo o mundo, o que correspondeu a 8% de toda demanda pelo grão mundialmente. (Brasil, 2020).

O Brasil está se tornando o maior fornecedor de alimentos mundial, as exportações do agronegócio Brasileiro saltaram de 20,6 bilhões de dólares para 96,9 bilhões de dólares entre os anos 2000 e 2019 (Brasil, 2020). O milho é considerado um dos produtos agrícolas mais importantes do Brasil, que na safra 2019/20 ficou como terceiro maior produtor mundial da cultura, perdendo apenas para EUA e China, com uma produção de mais de 100 milhões de toneladas do grão (Conab, 2019). Um dos desafios dos produtores é aumentar a produtividade de forma a suprir a crescente demanda mundial de alimentos, de forma sustentável (Saath et al., 2018).

Segundo Possamai et al. (2001), a escolha do sistema de produção na cultura do milho vai ser fundamental para melhor sustentabilidade do solo, e um dos principais fatores para aumento da produtividade no cereal. Além disso, esse sistema contribui para uma melhor umidade no solo, para períodos de veranicos, menor erosão da área, área mais rica de ciclagem de nutrientes e também melhor controle de plantas daninhas na área.

O nitrogênio é o nutriente mais exigido pelo milho, pois sua deficiência limita a produtividade da cultura (Farinelli e Lemos, 2012). Segundo Martins et al. (2018), para atingir altas produtividades na cultura do milho são necessárias grandes quantidades de nitrogênio, devido a solos de baixa fertilidade, e para suprir a demanda por esse nutriente, a prática mais utilizada é o uso de fertilizantes nitrogenados. A fertilização com nitrogênio é um dos maiores custos do processo de produção de culturas não leguminosas (Nunes et al., 2015). De acordo com Milléo e Cristófoli (2016) a utilização de inoculantes à base de bactérias fixadoras de N, principalmente do gênero *Azospirillum* é uma alternativa ao uso de fertilizantes nitrogenados, a qual pode suplementar ou, até mesmo, substituir a utilização destes fertilizantes nos sistemas agrícolas de produção.

Bactérias promotoras de crescimento de plantas são bactérias benéficas encontradas na rizosfera, e em raízes e tecidos, que promovem o crescimento das plantas (Davison, 1988; Kloepper et al., 1989). Dentro deste grupo, bactérias do gênero *Azospirillum* ganharam grande destaque devido à descoberta da sua capacidade de fixação biológica do nitrogênio e é um dos gêneros promotores de crescimento de plantas mais estudados (Galindo et al., 2016). Essas bactérias podem estimular o crescimento das plantas por uma série de mecanismos além da fixação biológica de nitrogênio, incluindo a produção de fitormônios e o aumento da disponibilidade de nutrientes (Galindo et al., 2020). Além disso, o *Azospirillum* fixa o nitrogênio atmosférico associativamente com espécies não leguminosas (Döbereiner e Pedrosa, 1987). Essas bactérias capazes de realizar a fixação biológica do nitrogênio da atmosfera conseguem transformá-lo em utilizável pelas plantas. Dessa forma, a adubação química nitrogenada pode ser reduzida e possibilitar ganho econômico e ambiental, já que o uso de fertilizantes eleva os custos de produção e pode ser prejudicial ao meio ambiente. Portanto, tal descoberta, possibilitou o uso dessas bactérias como estratégia para reduzir os custos de produção de forma mais segura (Hungria et al., 2010).

Devido à necessidade do aumento de produtividade de plantas, e redução dos impactos da aplicação de fertilizantes nitrogenados, destaca-se a importância da exploração das bactérias promotoras de crescimento de plantas. Como o resultado da interação entre essas bactérias e o milho depende de muitos fatores, como o genótipo e a disponibilidade de nitrogênio, além do próprio sistema de cultivo, é importante avaliar os efeitos da associação de genótipos de milho com *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento e produtividade das plantas de milho em diferentes sistemas de cultivo. Diante desse contexto, o objetivo do trabalho foi estudar a resposta de genótipos de milho ao *Azospirillum brasilense* em diferentes sistemas de cultivo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cultura do milho

O Brasil é o terceiro maior produtor, e segundo maior exportador mundial, de milho (*Zea mays* L.), cereal de maior produção no mundo (Conab, 2019). A produção da safra 2019/2020 superior a 100 milhões de toneladas, colhida em cerca de 18 milhões de hectares e com uma produtividade média de 5.533 kg ha⁻¹ (Conab, 2020). Já para a safra 2020/2021 é esperada uma produção de cerca de 96 milhões de toneladas colhidas em uma área com aproximadamente de 20 milhões de hectares e com uma produtividade média de 4.858 kg ha⁻¹ (Conab, 2021), uma redução em torno de 6% em relação safra anterior, esta produção é destinada ao mercado interno e externo. Além de ter importância no agronegócio, é uma das principais fontes de carboidratos na alimentação humana e principal componente energético na suplementação animal e um dos principais insumos do complexo agroindustrial, além disso, a cultura representa um importante papel na rotação de culturas, no sistema semeadura direta (Quadros et al., 2014).

É uma cultura muito exigente em nutrientes, a deficiência principalmente de nitrogênio pode acarretar em uma perda de até 22% na produção final, e podem ser observados sintomas como clorose, perda foliar e o amarelecimento das folhas em estádios mais avançados (Subedi et al., 2009). O nitrogênio é um dos nutrientes mais exigidos pela planta do milho, e seu suprimento inadequado é um dos principais fatores limitantes na produtividade de grãos, na diminuição das taxas de iniciação e expansão foliar, no tamanho final e na intensidade de senescência das folhas (Schröder et al., 2000). Além do seu efeito direto sobre a produtividade, o N interfere em diversas outras características da planta relacionadas ao crescimento e desenvolvimento que podem afeta-la indiretamente. Como no aumento do peso de mil grãos, no número de espigas por planta, na altura de plantas, no peso e comprimento da espiga, no diâmetro do colmo, na produção de matéria seca e no crescimento radicular (Okumura et al., 2011). Devido ao custo dos fertilizantes nitrogenados e os problemas encontrados em algumas fontes do mesmo, o manejo das adubações tem sido um desafio enorme para os produtores, principalmente para extrair o máximo da

cultura (Menezes, 2004). Além disso, o excesso de N é um dos que mais contribuem para a contaminação dos lençóis freáticos (Assmann et al., 2003).

Uma alternativa ao uso de fertilizantes nitrogenados é a fixação biológica do nitrogênio, que vem sendo apresentada como opção sustentável para o plantio em solos agrícolas, pois pode suplementar ou, até mesmo, substituir a utilização destes fertilizantes (Hungria et al., 2010).

2.2. Sistemas de Cultivo

De acordo com Lovato et al. (2004), o sistema de preparo do solo e o manejo adotado são fatores que podem influenciar na quantidade e eficiência de utilização dos nutrientes absorvidos pelo milho, refletindo na produtividade.

O SPD é uma alternativa de manejo que melhora os atributos químicos, físicos e biológicos do solo, reduz a perda de nutrientes e erosão superficial do solo levando ao aumento da produtividade (Berté et al., 2010).

Os princípios básicos do SPD são o não revolvimento do solo, a rotação de culturas e a cobertura vegetal que tem por finalidade proteger o solo da erosão que pode ser causada pelo impacto direto das gotas da chuva e do escoamento superficial da água da chuva (Peché Filho, 2005).

O sucesso dessa prática conservacionista depende da produção de fitomassa (Gonçalves et al., 2000) e a manutenção da cobertura na superfície do solo é fundamental para o sistema. A palhada acumulada pelas plantas de cobertura ou pelas pastagens, e restos culturais da última lavoura cultivada proporcionam um ambiente favorável à recuperação ou à manutenção das propriedades biológicas do solo (Menezes e Leandro, 2004).

As culturas de cobertura são amplamente utilizadas no plantio direto para formar palhada, disponibilizar e liberar nutrientes para as culturas sucessoras (Silva e Menezes, 2007). O tempo de permanência da cobertura morta na superfície do solo, é determinado pela velocidade de decomposição dos resíduos vegetais. Quanto mais rápida ela for, maior a velocidade de liberação de nutrientes, e menor a proteção oferecida ao solo. Por isso, geralmente as leguminosas são consorciadas com gramíneas. As gramíneas produzem resíduos vegetais de decomposição mais lenta,

portanto protegem o solo por maior período de tempo e as leguminosas tem uma rápida taxa de decomposição, liberam nitrogênio (N) no solo.

As leguminosas são as plantas mais utilizadas para cobertura do solo. De acordo com Silva e Menezes (2007), tal fato se deve a sua capacidade de simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, ao seu sistema radicular profundo que possibilita a extração de nutrientes de camadas mais profundas do solo, e a sua elevada produção de massa seca. Em alguns tipos de solo, nutrientes como nitrogênio e potássio tem lixiviação e volatilização acentuada causando deficiência dos mesmos, o uso dessas plantas de cobertura também pode ajudar a diminuir essas perdas. (Sousa e Lobato, 2004).

Fatores como o manejo adequado da dose de nitrogênio a ser aplicada, da fonte nitrogenada e época de aplicação do fertilizante nitrogenado tem grande influência no aproveitamento deste nutriente pelo milho (Silva et al., 2005, Okumura et al., 2011). O N que a cultura do milho exige é absorvido praticamente durante todo ciclo, sendo sua maior demanda no estágio vegetativo V3 (Büll, 1993), quando seu potencial produtivo é definido. Para garantir uma boa produção, é necessário ter N disponível no sistema desde essa fase. (Magalhães e Durães, 2006). As recomendações de fertilização com nitrogênio sugerem o uso de uma aplicação parcelada, que visa reduzir possíveis perdas de N, principalmente por lixiviação (Cantarella, 2007). Segundo Fancelli e Tsumanuma (2007), para cada tonelada de grão que é produzida temos em média uma extração de 15 a 20 kg de N.

Geralmente, a dosagem de N dos fertilizantes minerais no milho está relacionada a sua eficiência, que decresce com o aumento da dose aplicada, pois podem ocorrer perdas tanto por lixiviação, volatilização e desnitrificação (Silva et al., 2006). Para aumentar a eficiência da adubação nitrogenada e diminuir as perdas, são utilizadas alternativas como o parcelamento e época de aplicação, onde ocorre maior aproveitamento do N, decorrente da sincronização entre as aplicações e o período em que a planta mais demanda o nutriente (Silva et al., 2005).

2.3. Bactérias diazotróficas

Cavaglieri et al. (2009) e Compant et al. (2010), relatam os efeitos positivos no crescimento das plantas, quando se utilizam inoculantes à base de bactérias promotoras de crescimento para estimular melhor desempenho dos cereais. Hungria et al. (2010) salienta a importância de bactérias do gênero *Azospirillum*, que são microrganismos de vida livre no solo que habitam as raízes de muitas plantas, especialmente gramíneas.

Das diversas bactérias do gênero *Azospirillum*, a de maior capacidade de se associar com gramíneas é o *Azospirillum brasilense*, e se destaca pelo seu potencial de fixação biológica de nitrogênio (Fukami et al., 2016), além de estímulos que auxiliam no funcionamento da planta, produzindo hormônios vegetais como auxinas, giberelinas e citocininas. No Brasil, Hungria et al. (2010) obtiveram incrementos de 26% na produtividade de grãos de milho ao inocularem as plantas com espécies selecionadas de *Azospirillum*.

Segundo Ardakani et al. (2011), essas bactérias estão na maioria dos solos e apresentam ampla diversidade genética; porém, para sua utilização como inoculantes em culturas agrícolas, é necessária uma seleção de estirpes eficientes para este fim. Portanto, conclui-se que embora a utilização de tais bactérias apresente algumas vantagens, muitos são os desafios relacionados a fatores como a seleção de melhores estirpes de bactérias que possuam afinidade com um maior número de genótipos de milho e que sejam menos sensíveis a fatores ambientais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área Experimental

O experimento foi conduzido na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, campus de Jaboticabal/SP, localizada na Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, no município de Jaboticabal/SP, a uma altitude média de 615,01 metros acima do nível do mar. O relevo é caracterizado 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 definido como tropical com inverno seco e classificado como Aw de acordo com o Sistema Internacional de Classificação de Köppen (1931), com temperatura média de 23.7 °C. A pluviometria média anual é de 1.340 mm, com concentração de chuvas no verão. O tipo de solo é classificado como Latossolo Vermelho eutrófico (Santos, 2018).

Durante a condução do experimento, a precipitação total foi de 768 mm e quando houve necessidade foi feita irrigação suplementar (Figura 1).

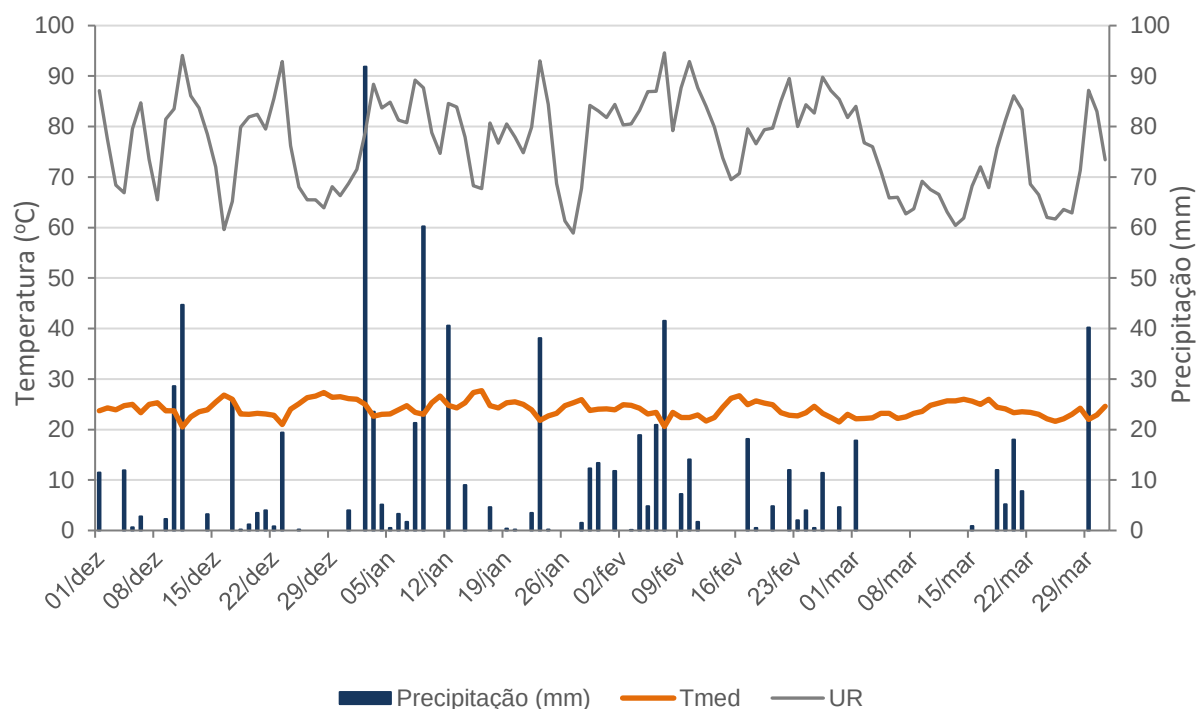


Figura 1. Precipitação, temperatura média (Tmed) e umidade relativa do ar (UR) durante o período experimental da safra 2019/2020.

Fonte: ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS DA FCAV/UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL.

A área tem um histórico de plantio direto desde 1990, com milho plantado como safra de verão, que geralmente era semeada durante a segunda quinzena de novembro de cada ano. Até 1998, as culturas de cobertura eram compostas por

vegetação espontânea. A partir deste ano, milho e soja foram empregados como safras de inverno, ambos sob irrigação por aspersão suplementar.

As plantas de cobertura foram semeadas em agosto de 2019 (*Lablab purpureus* e Milho), em dezembro as plantas foram dessecadas com atrazina (1,5 kg de ingrediente ativo ha⁻¹) e utilizando-se glifosato potássico (1,3 g ha⁻¹ do ingrediente ativo ha⁻¹), quando o milho estava em estágio R4 e o *Lablab purpureus* já tinha florescido. Posteriormente as plantas foram picadas com uso de um cortador mecânico e uniformemente espalhas na área de cultivo.

O plantio do experimento foi realizado mecanicamente com uma semeadora adubadora no dia 13/12/2019, utilizando-se 300 kg ha⁻¹ de adubo com formulação 0-20-20 na área total. A inoculação com o *Azospirillum brasilense* foi realizada no mesmo dia via solo com bomba costal com o produto comercial QualyFix Gramíneas® na dose 600 ml ha⁻¹ (5×10⁶ bactérias ml⁻¹, estirpes AbV5 + AbV6), conforme recomendações do fabricante. No dia posterior foi feito a adubação de base com nitrogênio (ureia) para fornecer 40 kg de N ha⁻¹ nas parcelas que receberam nitrogênio.

O controle de plantas daninhas e pragas foi realizado no dia 08/01/2020 com base nas recomendações para a cultura do milho (Embrapa, 2015). Nas parcelas em que foi realizada cobertura, foi aplicada Ureia na dose de 140 kg de N ha⁻¹ 26 dias após a semeadura, quando as plantas estavam no estágio V4/V5 de desenvolvimento.

No dia 10/01/2020, foi feito a segunda inoculação de *Azospirillum brasilense* na área nas mesmas parcelas que receberam a primeira inoculação, com ajuda de uma bomba costal, com aplicação via solo utilizando a mesma dosagem do produto QualyFix Gramíneas da aplicação anterior.

A colheita manual foi feita no dia 04/05/2020, e o milho foi debulhado com 11% de umidade com a ajuda de um debulhador de grãos.

3.2.Tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi conduzido na safra 2019/2020. Foram utilizados três híbridos comerciais de milho 2B610PW, 30A37 e P4285YHR (Quadro 1). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com 5 repetições em parcelas

subdivididas, sendo as parcelas experimentais constituídas por cinco linhas de quatro metros de comprimento, espaçadas de 0,45 metros entre linhas e 0,33 metros entre plantas dentro da linha, representando uma população aproximada de 67.000 mil plantas por hectare. Como parcela útil para as avaliações foram consideradas apenas duas linhas da parcela.

Para avaliar a resposta ao *Azospirillum*, foram utilizados seis sistemas de cultivo (parcela), obtidos pela combinação de diferentes aplicações de Nitrogênio (N), sem aplicação de N, N aplicado somente na semeadura-base e N aplicado na semeadura-base e em cobertura, com as duas culturas de cobertura antecessoras à implantação do experimento, milho e *Lablab purpureus* (Quadro 2). Em relação ao fator inoculação com *Azospirillum brasilense* (sub-parcelas), os tratamentos foram constituídos em: testemunha (sem inoculação) e inoculação via solo (Quadro 3).

Quadro 1. Características dos híbridos

Híbridos	Características	População	Sanidade
2B610PW	Precoce	50-70.000 plantas/ha	Alta
30A37	Precoce	50-70.000 plantas/ha	Media
P4285YHR	Precoce	60-70 mil plantas/ha	Alta

Quadro 2. Fator e níveis da parcela

Níveis	Fator parcela: Sistemas de cultivo
1	<i>Lablab purpureus</i> - 0 nitrogênio
2	<i>Lablab purpureus</i> - 40kg ha ⁻¹ nitrogênio (base)
3	<i>Lablab purpureus</i> - 40-140 kg ha ⁻¹ nitrogênio (base e cobertura)
4	Milho - 0 nitrogênio
5	Milho - 40kg ha ⁻¹ nitrogênio (base)
6	Milho - 40-140 kg ha ⁻¹ nitrogênio (base e cobertura)

Quadro 3. Fator e níveis da subparcela

Níveis	Fator subparcela: Inoculação
1	Sem <i>Azospirillum brasilense</i>
2	Com <i>Azospirillum brasilense</i>

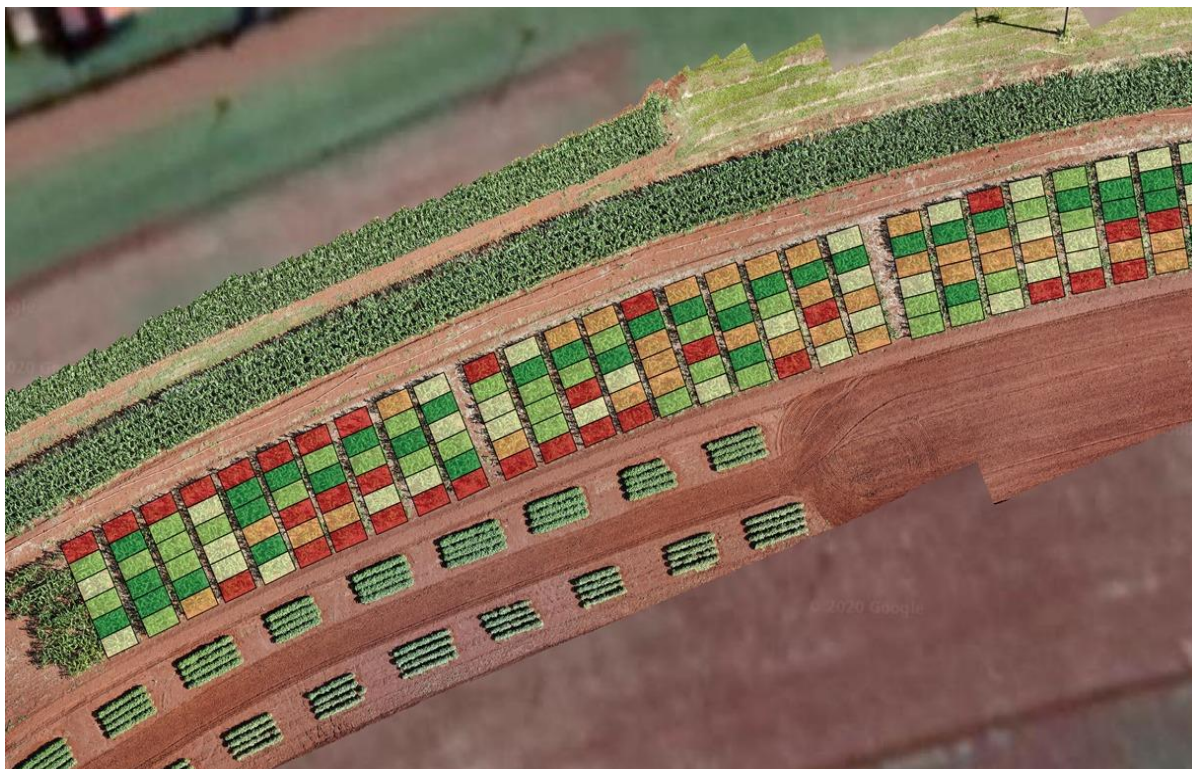


Figura 2. Foto aérea da área experimental com a cultura em desenvolvimento.

Em cada parcela dos experimentos foram avaliadas as características: altura da planta, altura da espiga, teor médio de clorofila aos 45, 60 e 90 dias após a semeadura, massa verde, massa seca, teor de N das folhas e produtividade de grãos.

O teor de clorofila foliar foi mensurado com o clorofilômetro portátil (Opti-Sciences, CCM-200), que mede os índices de conteúdo de clorofila quando as plantas se encontravam nos estádios V8-10 (45 dias), VT (60 dias), R3 (90 dias), com as medições sendo feitas na parte central de cada folha e utilizando seis plantas de cada parcela da área útil.

A massa verde foi determinada pela pesagem das folhas, caules e espigas coletadas de cinco plantas de cada parcela. Para a massa seca as amostras foram secas em estufa com circulação forçada a 65°C até peso constante. A massa verde e seca produzida em cada parcela foram calculadas em kg por planta quando as plantas se encontravam em estágio R2-R3.

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. 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 (Cantarella et al., 1997).

A altura média de planta foi obtida no estágio R4 do milho, pela distância entre a superfície do solo e a base de inserção da folha bandeira com auxílio de régua graduada em centímetros. A altura média de inserção de espiga foi medida nas mesmas plantas utilizadas na determinação da altura média de planta e obtida pela distância entre a superfície do solo e o ponto de inserção da espiga principal com o colmo, com uso de régua graduada em centímetros. Ambas foram expressas em cm.

Para estimar a produtividade de grãos da cultura, todas as espigas da área útil de cada parcela foram coletadas e, em seguida, debulhadas em debulhadora mecânica. Após a debulha os grãos foram pesados e foi estimada a produtividade de grãos em kg ha⁻¹.

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância aplicando-se o teste F a 5% de probabilidade no programa estatístico Genes, sendo as médias comparadas ao nível de 5% de significância pelo teste de Duncan.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo teste F verifica-se que houve efeito significativo da interação entre sistemas de produção e inoculação apenas para a variável teor de clorofila aos 90 dias para o híbrido P4285YHR, para as demais características avaliadas não houve efeito significativo da interação para nenhum dos híbridos testados e caracteres avaliados (Tabela 1). Houve apenas o efeito isolado dos sistemas de cultivo na maioria das características avaliadas. Resultados semelhantes foram observados por Vogt et al. (2014). Repke et al. (2013) e Morais et al. (2015) relataram nenhum ganho pela inoculação, mas a aplicação da bactéria não interferiu no desenvolvimento de plantas e na produtividade da cultura.

Tabela 1. Análise de variância da produtividade (Prod.), massa verde (MV), massa seca (MS), teor de clorofila a 45 (C45), 60 (C60), e 90 (C90) dias após a semeadura, altura planta, altura espiga e teor de nitrogênio (N) em função dos sistemas de cultivo e inoculação com *Azospirillum brasilense*.

2B610									
	Prod.	Massa Verde	Massa Seca	C45	C60	C90	Altura planta	Altura espiga	N
Sistema Produção	2.624	5.5721**	5.5721**	1.804	0.5679	5.7945**	2.4677	2.6593	3.5256
Inoculação	0.2382	0.0654	0.0654	0.1944	2.0328	1.1395	0.1329	2.0738	3.531
Sist x Inoc	1.7641	0.937	0.937	1.1806	0.9704	1.1923	0.7345	0.3887	1.7848
CV parcela	12.6314	11.1649	11.1649	17.1814	18.8992	9.8386	4.5122	6.2231	8.9872
CV sub.	14.0167	10.9179	10.9179	12.852	14.1551	15.0899	3.3475	4.4887	12.3791
30A37									
	Prod.	Massa Verde	Massa Seca	C45	C60	C90	Altura planta	Altura espiga	N
Sistema Produção	3.7201*	6.3491**	6.3491**	2.157	1.0997	10.264**	12.2649**	16.2179**	1.8020
Inoculação	1.5202	0.01621	0.01621	0.17186	2.1701	0.461433	0.3192	2.231023	0.2441
Sist x Inoc	0.8865	0.4634	0.4634	1.7485	0.3858	1.2224	1.4173	1.0805	0.8291
CV parcela	10.1201	11.662	11.662	14.2521	15.9593	11.1358	3.4959	4.673	6.7533
CV sub.	11.056	13.6991	13.6991	12.9708	12.1071	10.697	2.8992	4.6398	11.3659
P4285									
	Prod.	Massa Verde	Massa Seca	C45	C60	C90	Altura planta	Altura espiga	N
Sistema Produção	1.2343	8.9413**	8.9413**	3.8402*	3.3067*	3.2044*	32.1669 **	43.042**	1.6108
Inoculação	1.4561	1.5825	1.5825	0.3324	0.0278	0.4192	0.09047	0.0442	0.4909
Sist x Inoc	1.1652	1.0128	1.0128	1.6132	0.4176	4.5809**	0.8489	0.338	1.0339
CV parcela	13.4734	10.9362	10.9362	14.5707	17.7877	15.8002	3.5851	4.5581	18.6657
CV sub.	13.1003	10.296	10.296	12.5683	11.9308	9.1779	3.3425	6.8107	19.1029

Hungria (2011) considera que tais resultados podem ser explicados pelo fato de que as características genéticas das plantas e das estirpes bacterianas e as

condições ambientais são determinantes nos efeitos da inoculação de milho. Souza et al. (2019) encontraram efeito positivo da inoculação na produtividade de grãos do milho em seu trabalho, entretanto relataram que os efeitos sobre as gramíneas são variáveis. Segundo Lana et al. (2012) é de extrema importância considerar a interação entre o genótipo da planta com as cepas eficientes da bactéria quando se deseja sucesso na fixação biológica do nitrogênio. Segundo Bartchechen et al. (2010), a inconsistência dos resultados de pesquisa com *Azospirillum* na cultura do milho podem variar de acordo com as condições da pesquisa e é a principal barreira à utilização da bactéria na cultura do milho.

De acordo com os resultados apresentados, observa-se que nenhum dos híbridos testados respondeu à inoculação. Tal resultado sugere falta de afinidade entre as estirpes bacterianas do inoculante e os genótipos de milho. Outra possibilidade é que as condições ambientais do experimento prejudicaram a resposta ao microrganismo.

Tais resultados podem ser explicados pelo fato que o cultivo de milho em sucessão a leguminosas proporciona maior quantidade de N à cultura e melhor aproveitamento do N proveniente do fertilizante pela planta (Carvalho et al., 2015). O *Lablab purpureus* é uma leguminosa que faz simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, portanto em ausência de fertilização a planta de cobertura, foi capaz de disponibilizar o nitrogênio necessário para o desenvolvimento da cultura.

Não houve efeito dos fatores quanto ao teor de nitrogênio nos híbridos. Hungria et al. (2010) observaram efeito significativo de aumento dos teores de N nas folhas com inoculação com *Azospirillum brasilense*, entretanto os experimentos foram realizados na região Sul do país, em condições edafoclimáticas distintas as do presente trabalho. Souza et al. (2019) propuseram que taxas de N superiores a 20 kg ha⁻¹ na semeadura podem afetar de forma prejudicial o papel de microrganismos, como *Azospirillum brasilense*, na fixação do N atmosférico, já que o N mineral em fertilizantes está mais facilmente disponível como um nutriente para as bactérias, uma vez que não requer a quebra da ligação tripla em N₂. Além disso, Pereira et al. (2015), comentaram que o efeito da inoculação sobre o teor de N deve ser analisado com cautela, pois a resposta à inoculação é intrínseca a cada genótipo utilizado e não pode ser utilizada como regra geral.

Para as situações em que houve significância do teste F, foi aplicado o teste de médias, cujos resultados estão apresentados para cada híbrido individualmente. nas figuras a seguir.

4.1. Híbrido 2B610PW

Os fatores inoculação e a interação entre sistemas de produção e inoculação não foram significativos. Para as variáveis teor de clorofila 90 dias após a semeadura, teor de massa verde e teor de massa seca, o fator sistemas de produção foi significativo.

Quanto ao teor médio de clorofila 90 dias após a semeadura, observa-se que o sistema de cultivo *Lablab purpureus* com adubação nitrogenada na base e na cobertura foi divergente e superior aos sistemas sem adubação nitrogenada e o sistema *Lablab purpureus* 0 foi divergente e superior ao sistema milho 0 (Figura 3). O teor de clorofila na folha é utilizado para predizer o nível nutricional de nitrogênio em plantas, pois existe correlação positiva entre a quantidade desse pigmento com o teor de N na planta (Argenta et al., 2001). Portanto, o maior teor de clorofila nas folhas pode ser explicado pelo maior teor de nitrogênio no solo devido a maior capacidade de fornecer nitrogênio da leguminosa como planta de cobertura quando comparada com a gramínea.

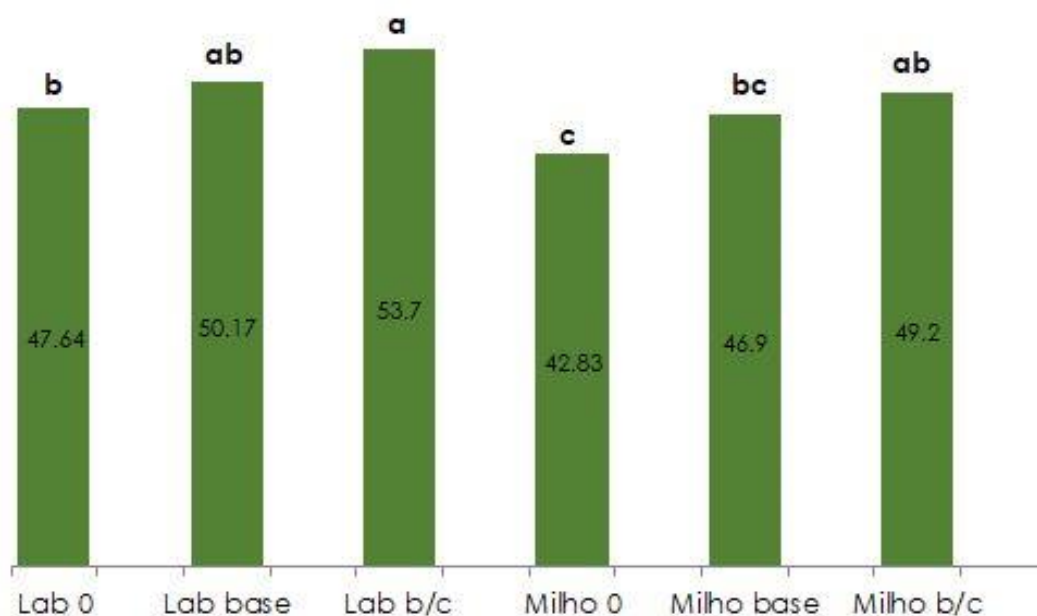


Figura 3. Valores médios de clorofila (ICC) 90 dias após a semeadura em função dos sistemas de cultivo.

Para massa seca e massa verde, houve diferença significativa entre os tratamentos de sistema de cultivo. As plantas de milho que sucederam a *Lablab purpureus*, apresentaram maiores médias quando comparadas a sucessão com milho sem fertilização (Figura 4 e 5). Podemos observar que o sistema que não recebeu nitrogênio e não tinha leguminosa como planta de cobertura foi inferior, e a falta do nutriente interfere diretamente no volume da massa verde e seca da planta. (Lovato et al., 2004).

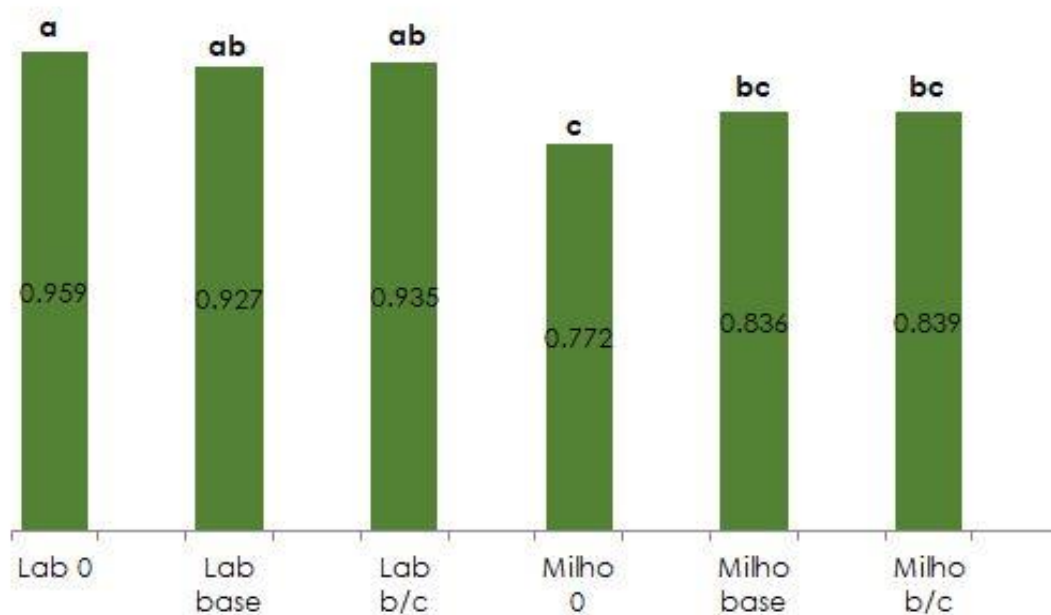


Figura 4. Valores médios de massa verde (kg planta⁻¹) em função dos sistemas de cultivo.

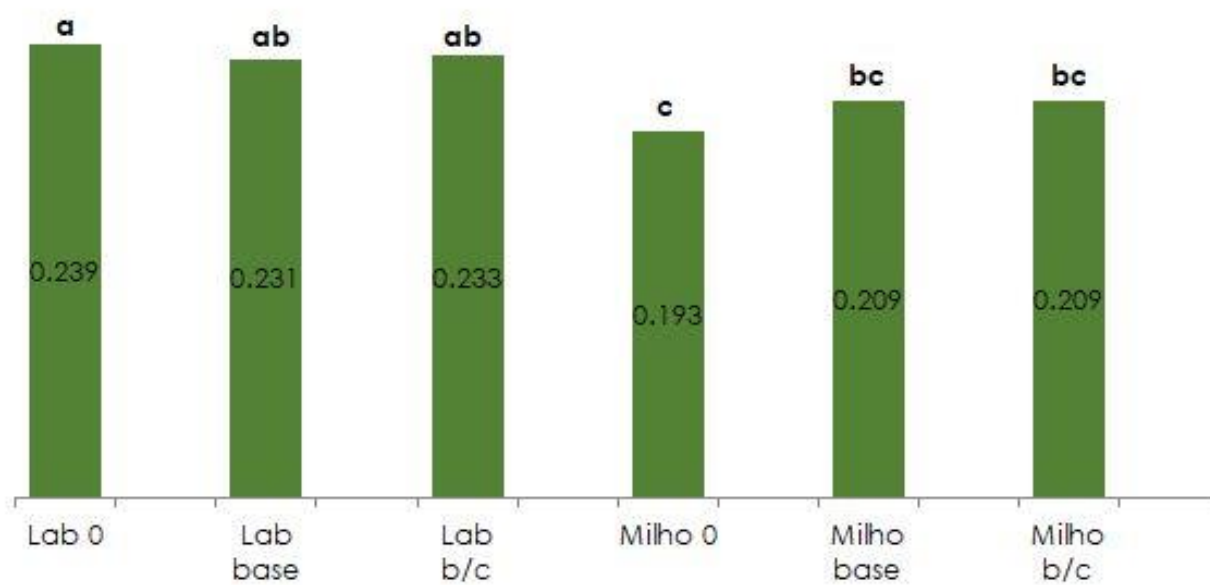


Figura 5. Valores médios massa seca (kg planta⁻¹) em função dos sistemas de cultivo.

4.2. Híbrido 30A37

O fator inoculação e a interação entre sistemas de produção e inoculação não foram significativos. Para as variáveis, produtividade, clorofila 90 dias após a semeadura, massa verde, massa seca, altura de plantas e altura de espigas, o fator sistemas de produção foi significativo.

Com relação aos teores médios de clorofila aos 90 dias, houve diferença mínima significativa entre os tratamentos de milho sem nitrogênio e os tratamentos que tiveram o *Lablab purpureus* como planta de cobertura (Figura 6). Tal resultado pode ser explicado pelo efeito positivo da planta de cobertura *Lablab purpureus* no teor de nitrogênio. Os sistemas de cultura que incluem leguminosas disponibilizaram maiores quantidades de N em comparação com sistemas cultivados apenas com gramíneas. (França et al., 2011).

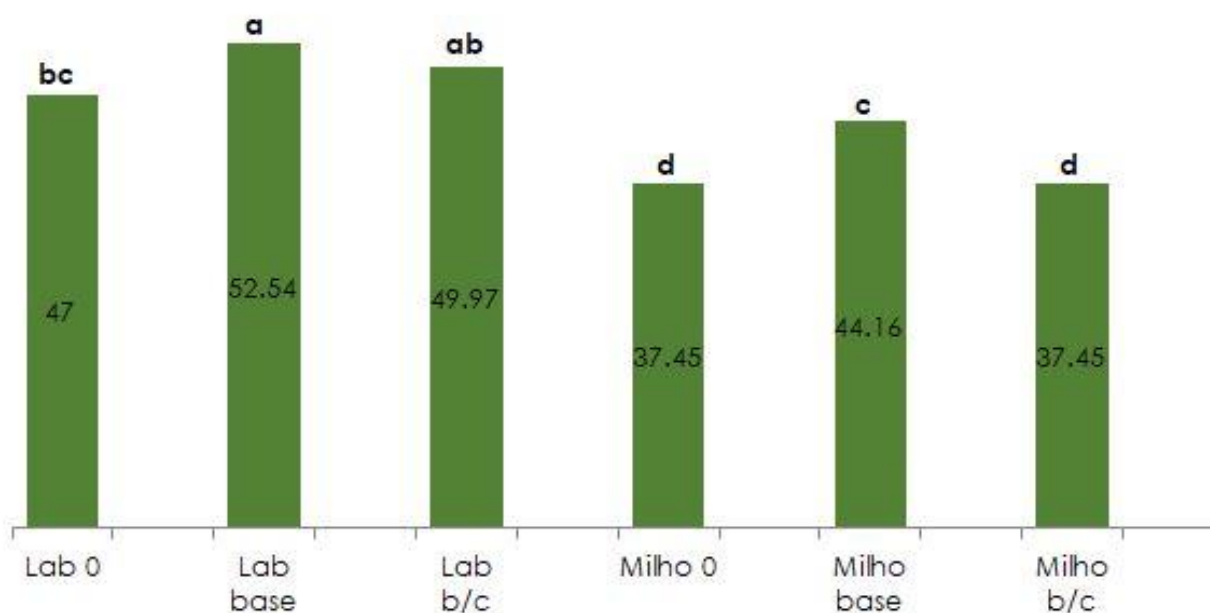


Figura 6. Valores médios de clorofila (ICC) 90 dias após a semeadura em função dos sistemas de cultivo.

Para massa seca e massa verde, os sistemas de produção milho sem fertilização nitrogenada e milho com adubação na base apresentaram menores médias quando comparado aos outros sistemas de produção (Figuras 7 e 8). Tal

resultado pode ser explicado pela menor disponibilidade de nitrogênio no sistema quando a planta de cobertura foi uma gramínea (Lovato et al., 2004).

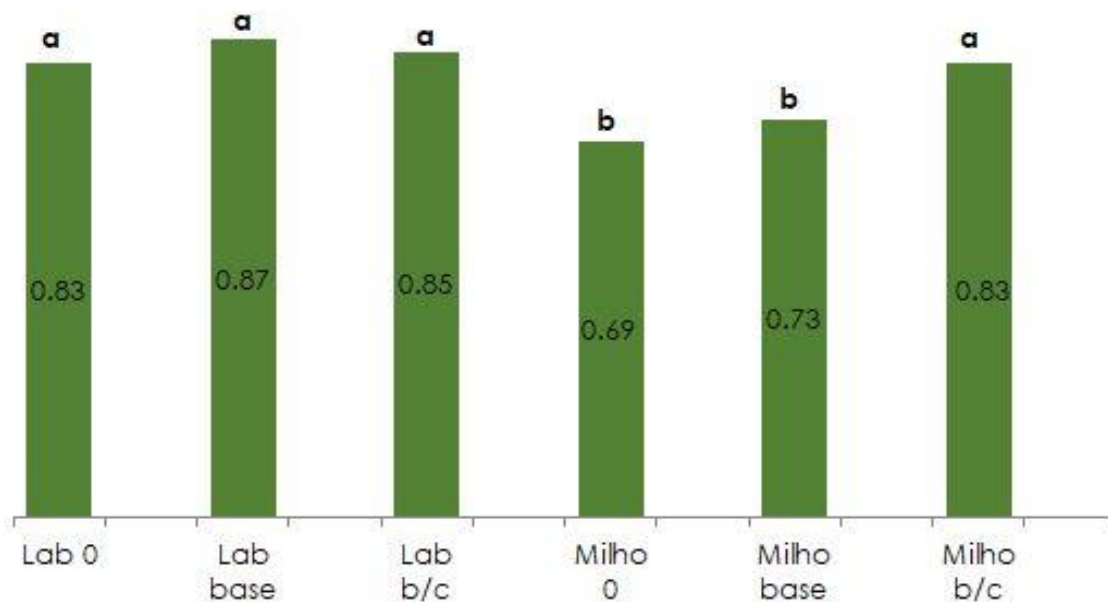


Figura 7. Valores médios de massa verde (kg planta⁻¹) em função dos sistemas de cultivo.

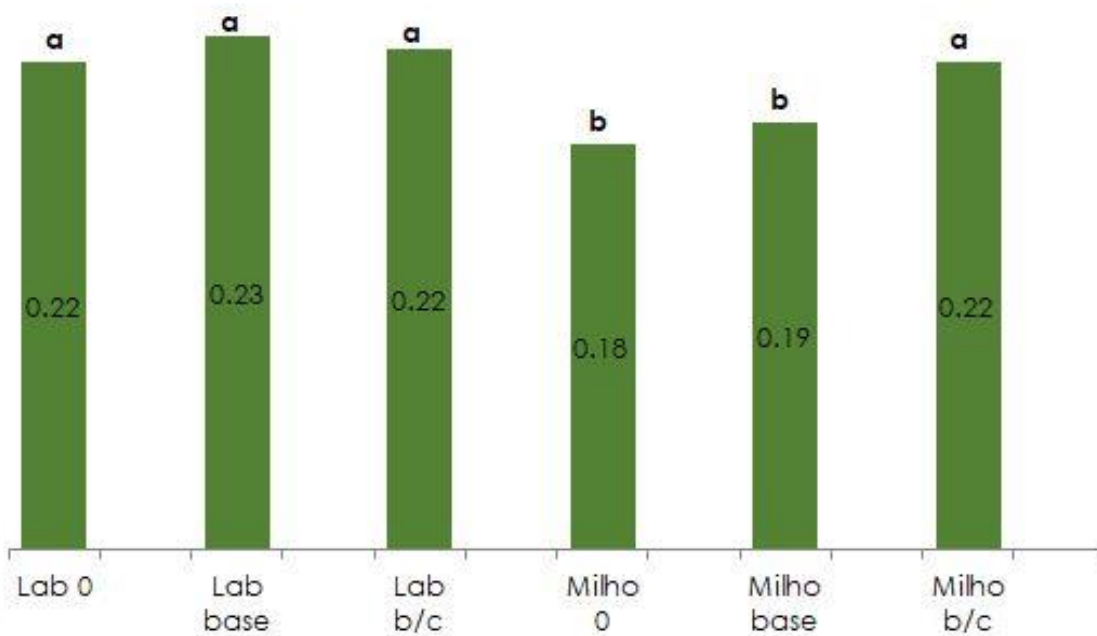


Figura 8. Valores médios de massa seca (kg planta⁻¹) em função dos sistemas de cultivo.

Quanto às médias de altura de planta e altura de espiga (Figuras 9 e 10), pode ser notado que houve diferença significativa entre os tratamentos que tiveram como planta de cobertura o milho sem aplicação de nitrogênio e os tratamentos que tiveram o *Lablab purpureus* como planta de cobertura (lab 0, lab b, lab b/c). Também houve diferença entre os tratamentos milho e *Lablab purpureus* com nitrogênio aplicado na base (milho b e lab b), o tratamento com a leguminosa possibilitou maiores valores de alturas. Tais resultados evidenciam que a ausência de fertilização nitrogenada resultou em valores médios menores quando a planta de cobertura foi o milho. A altura de planta é influenciada pela disponibilidade de nitrogênio no solo, pois este nutriente participa diretamente da divisão e expansão celular e do processo fotossintético (Castro et al., 2008). Portanto, os valores médios superiores podem estar relacionados a maior disponibilidade nos sistemas em que o *Lablab purpureus* foi a planta de cobertura, devido a capacidade simbiótica da leguminosa com bactérias promotoras de crescimento Silva e Menezes (2007).

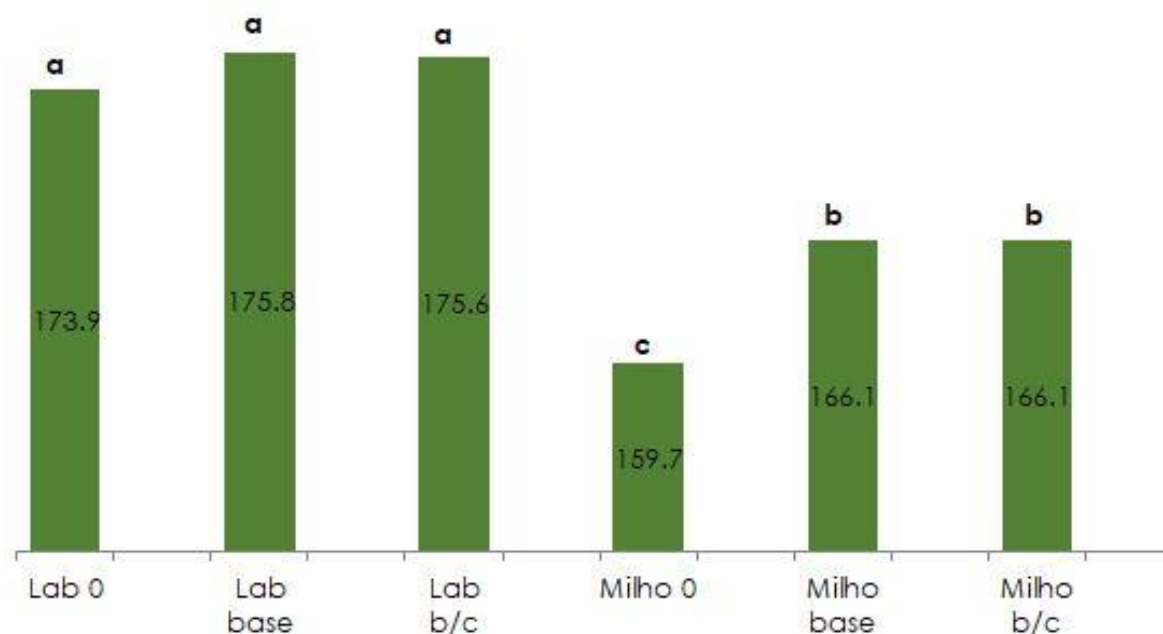


Figura 9. Valores médios de altura de planta (cm) em função dos sistemas de cultivo.

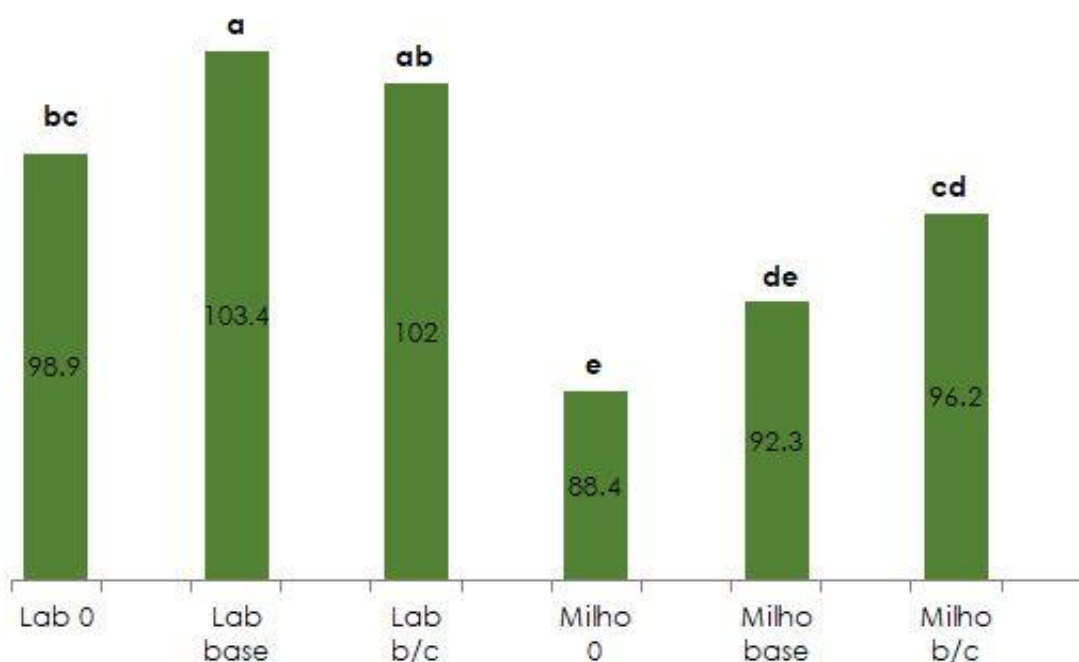


Figura 10. Valores médios de altura de espiga (cm) em função dos sistemas de cultivo.

Os sistemas de cultivo tiveram efeito sobre a produtividade. Os sistemas de cultivo que teve *Lablab purpureus* como planta de cobertura e recebeu adubação nitrogenada na base e na base e na cobertura, foram superiores aquele em que a cultura antecessora foi o milho sem fertilização nitrogenada (Figura 11). Segundo Araújo et al. (2004), a produtividade de grãos e o total de N acumulado aumentaram com o aumento das doses de N aplicadas.

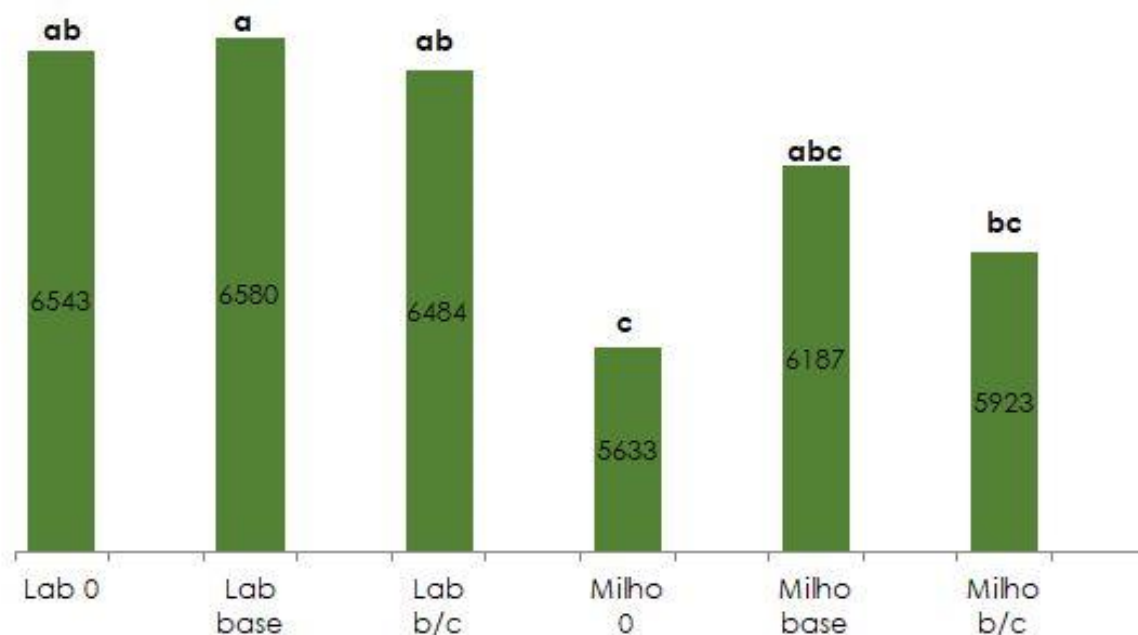


Figura 11. Valores médios de produtividade (kg ha⁻¹) em função dos sistemas de cultivo.

4.3 Híbrido P4285YHR

Pode ser notado que para o híbrido P4285YHR, o fator inoculação e a interação entre sistemas de produção e inoculação foram não significativos, para as variáveis clorofila 45, clorofila 60, clorofila 90 dias após a semeadura, massa verde, massa seca, altura de plantas e altura de espigas o fator sistemas de produção foi significativo. Houve efeito da interação entre sistemas de cultivo e inoculação sobre a variável resposta teor de clorofila 90 dias após a semeadura.

Para teor foliar de clorofila 45 dias após a semeadura, o sistema de cultivo milho 0 e milho fertilizado na base, os valores médios foram menores do que os sistemas de cultivo *Lablab purpureus* sem nitrogênio, *Lablab purpureus* com fertilização nitrogenada na base e na cobertura e milho fertilizado com nitrogênio na base e cobertura (Figura 12). Podemos observar que a leguminosa como planta de cobertura disponibilizou maior aporte de nitrogênio ao sistema contribuindo para o maior teor de clorofila nas folhas (França et al., 2011).

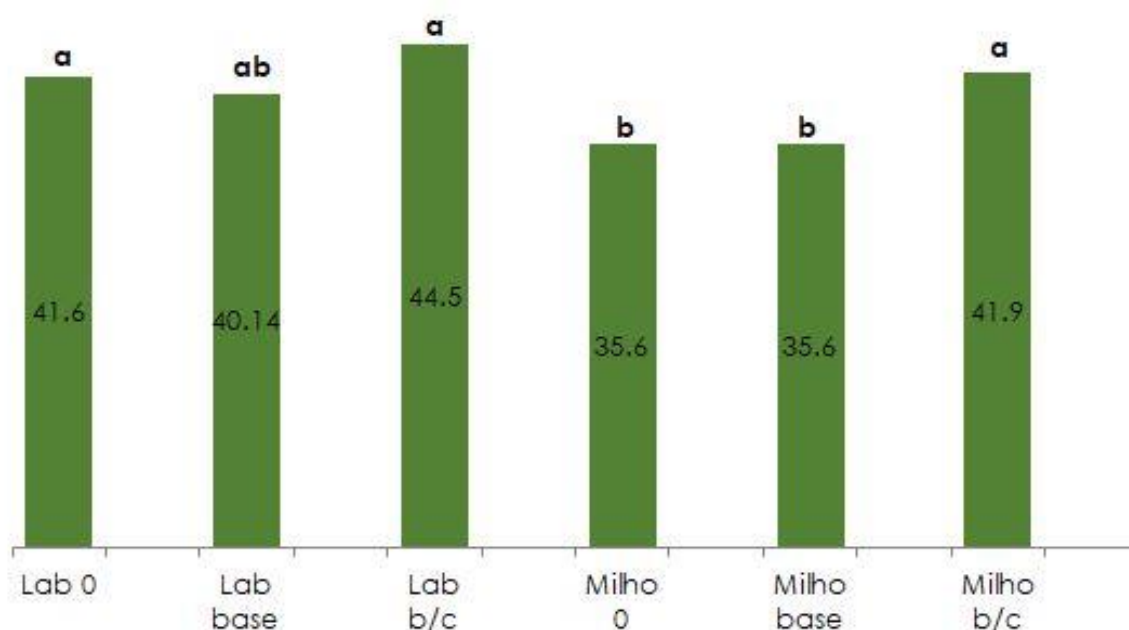


Figura 12. Valores médios de clorofila (ICC) 45 dias após a semeadura em função dos sistemas de cultivo.

Em relação aos teores médios de clorofila 60 dias após a semeadura, no sistema milho sem fertilização o teor de clorofila foi semelhante no sistema milho fertilizado na base e menor que nos demais sistemas de cultivo (Figura 13). Os resultados observados estão de acordo com outros publicados, em que as respostas positivas são relacionadas ao acúmulo de massa de matéria seca pelas plantas em função da leguminosa como planta de cobertura (França et al., 2011).

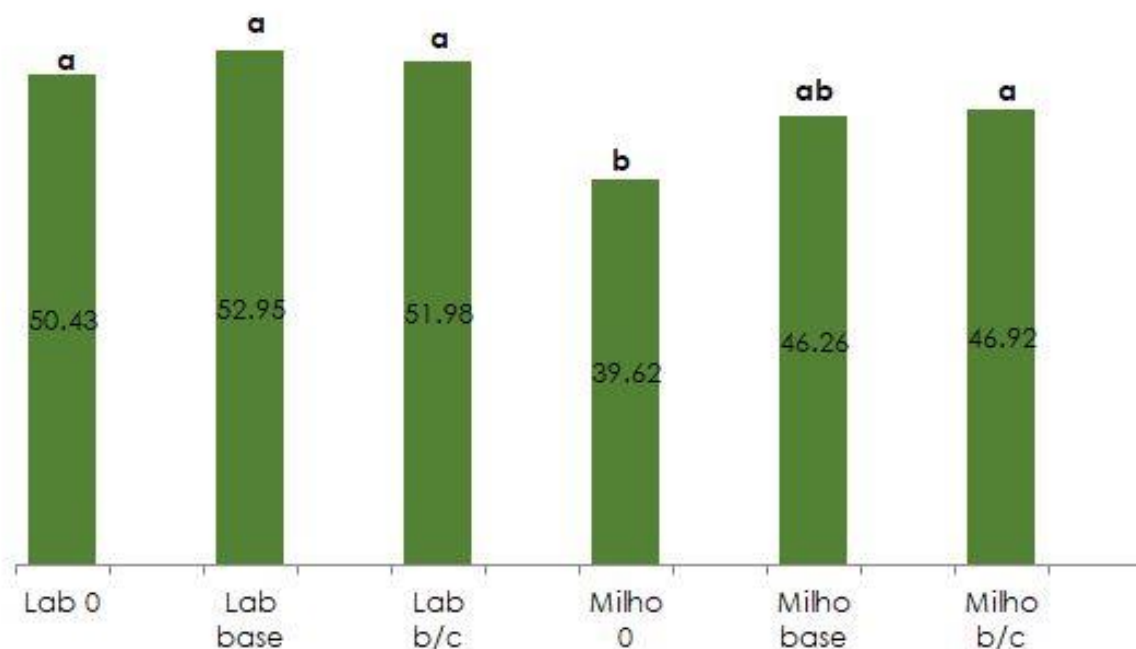


Figura 13. Valores médios de clorofila (ICC) 60 dias após a semeadura em função do sistema de cultivo.

Quanto ao teor médio de clorofila medido 90 dias após a semeadura, os resultados indicam que nos sistemas de cultivo fertilização nitrogenada, houve menor conteúdo de teor de clorofila em relação aos sistemas de cultivo que tiveram adubação nitrogenada na base e na cobertura (Figura 14). Onde houve maior disponibilidade de nitrogênio, consequentemente apresentou melhor resposta nas análises (Argenta et al., 2001).

A interação entre sistemas de cultivo e inoculação com *Azospirillum brasilense* foi significativa a respeito desta característica, os resultados constam na Figura 15. No sistema de produção planta de cobertura *Lablab purpureus* sem aplicação de nitrogênio (lab 0), houve menor teor de clorofila nas folhas de milho inoculadas com *A. brasilense* em relação às folhas das plantas não inoculadas. Já no sistema de produção planta de cobertura milho com aplicação do fertilizante na base e na cobertura (milho b e milho b/c) ocorreu o inverso, as plantas inoculadas com *A. brasilense* apresentaram maior conteúdo de teor de clorofila. Segundo Dobbelaere et al., (2001), a inconsistência em trabalhos de inoculação com *Azospirillum* é bastante conhecida e são atribuídas a variações no ambiente, solo ou substrato, nas plantas e nos componentes da microflora.

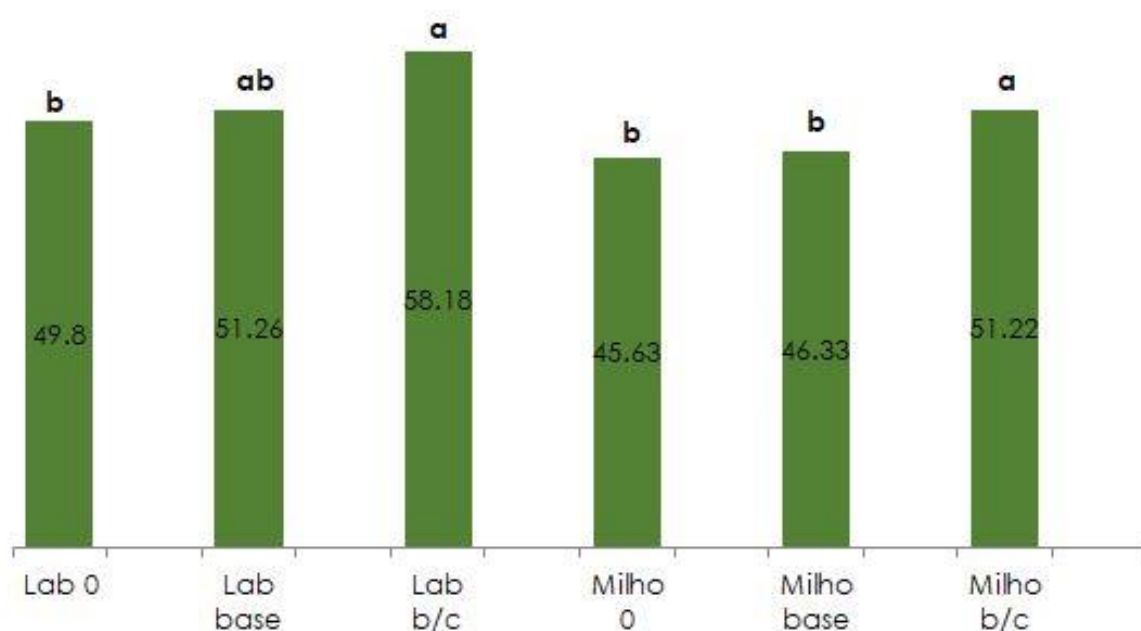


Figura 14. Valores médios de clorofila (ICC) 90 dias após a semeadura em função do sistema de cultivo.

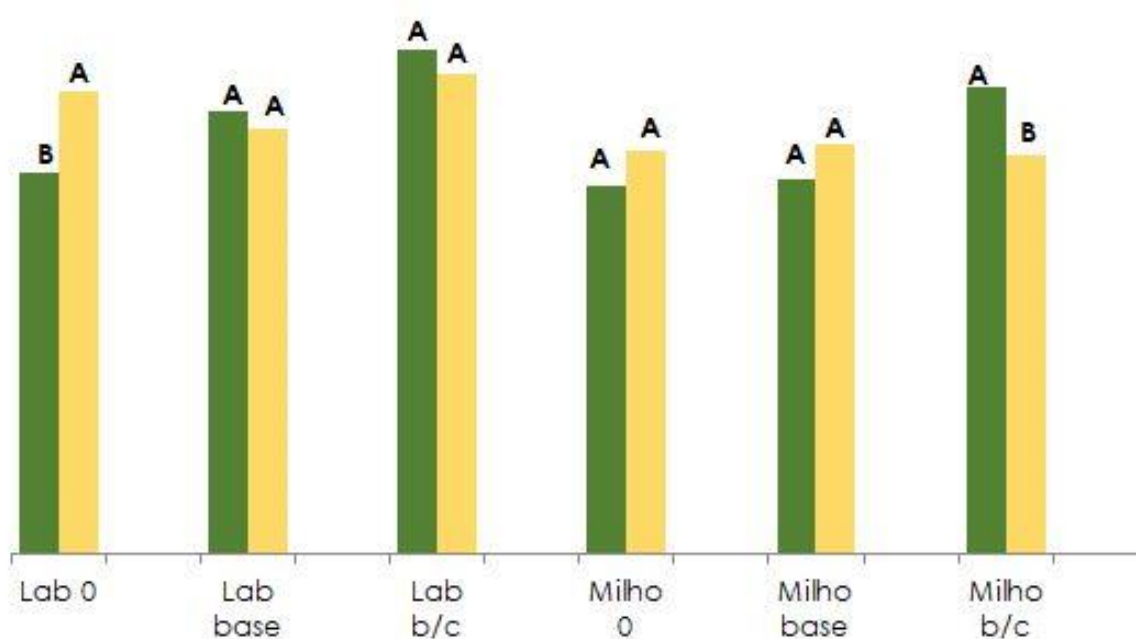


Figura 15. Valores médios de clorofila (ICC) 90 dias após a semeadura em função do sistema de cultivo e da inoculação com *Azospirillum brasilense*.

Observa-se que houve diferença significativa entre os sistemas de produção para teores médios de massa verde e massa seca de plantas. Os tratamentos com

milho como planta de cobertura (milho base e milho b/c) foram menores e diferentes dos demais tratamentos (Figuras 15 e 16), indicando que a leguminosa foi capaz de possibilitar maior quantidade de nitrogênio disponível para a planta (Lovato et al., 2004).



Figura 16. Valores médios de massa verde (kg planta⁻¹) em função do sistema de cultivo.

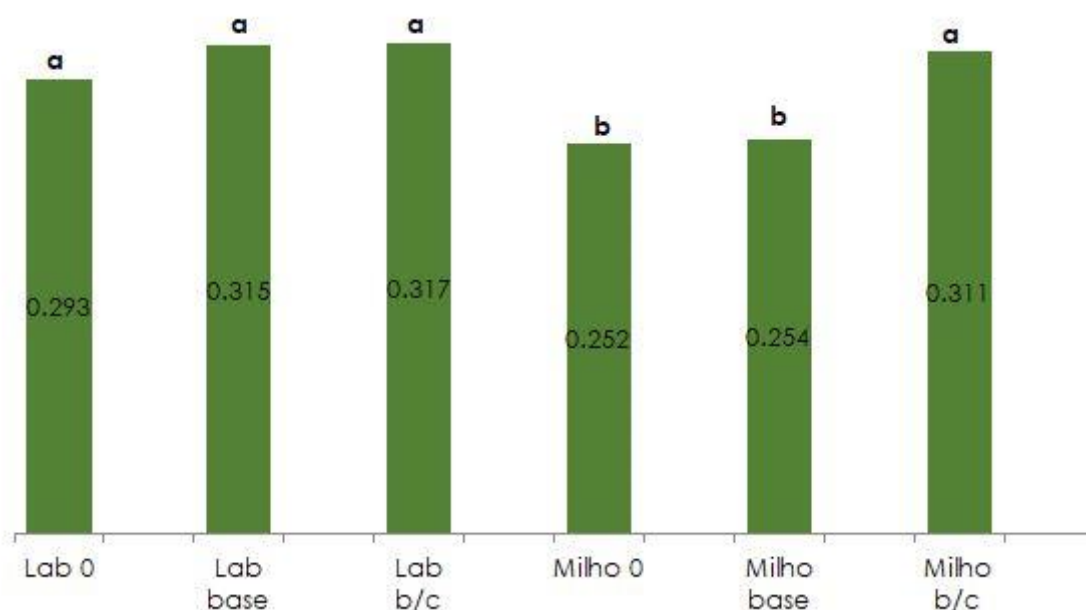


Figura 17. Valores médios de massa seca (kg planta⁻¹) em função do sistema de cultivo.

Os sistemas de cultivo que tiveram como planta antecessora *Lablab purpureus* foram diferentes e obtiveram maiores médias de altura de planta e altura de espigas em relação aos sistemas que tiveram o milho como planta de cobertura (Figuras 17 e 18), resultando em plantas maiores. Este resultado pode ser explicado pela maior disponibilização do nitrogênio pela fixação biológica do nutriente pela leguminosa e evidencia a relação do crescimento das plantas de milho com o suprimento de N. O processo de crescimento do vegetal depende do N para processos como a síntese de proteína, absorção iônica, fotossíntese, respiração, multiplicação e diferenciação celular entre outros (Okumura et al., 2011).

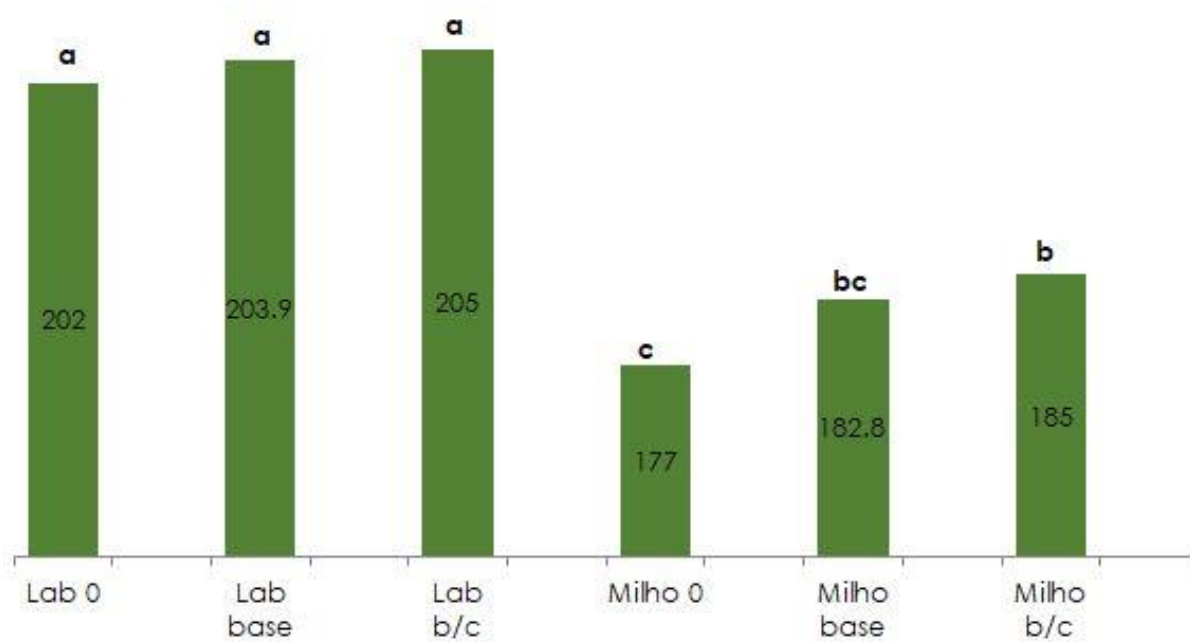


Figura 18. Valores médios de altura de planta (cm) em função dos sistemas de cultivo.

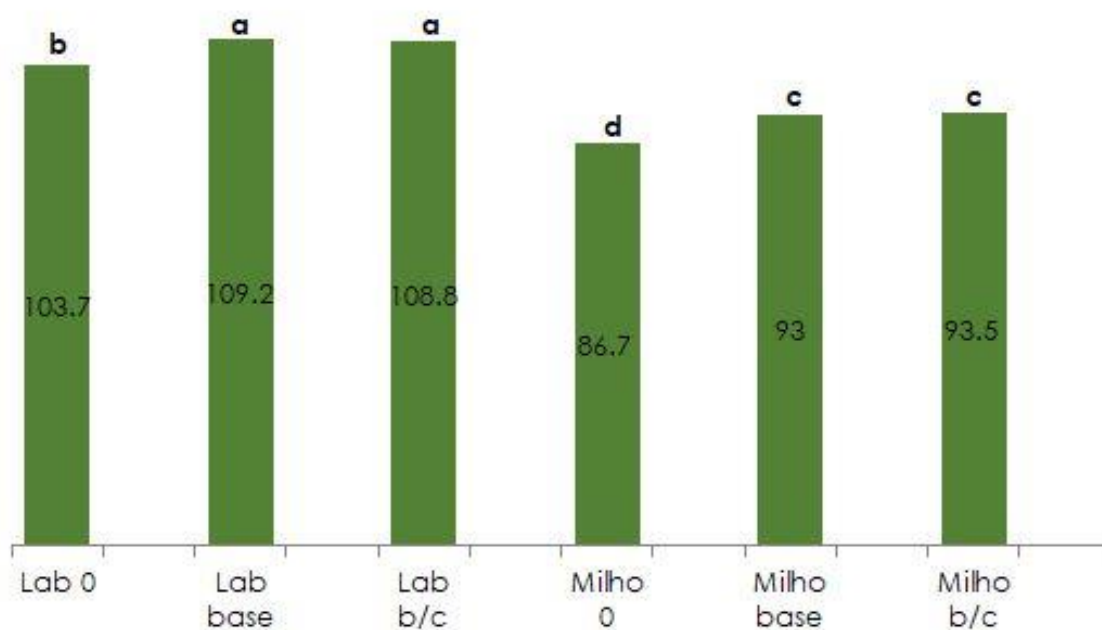


Figura 19. Valores médios de altura de espiga (cm) em função dos sistemas de cultivo.

5. CONCLUSÕES

A inoculação com *Azospirillum brasilense* em plantas de milho, não afetou o rendimento de grãos, a altura de plantas, altura de espigas, a massa verde, a massa seca, o teor de clorofila e o teor de nitrogênio nos diferentes sistemas de cultivo considerados.

Não houve efeito de interação entre a inoculação de *A. brasilense* e os sistemas de cultivo, exceto para o híbrido P4285 o teor de clorofila 90 dias após a semeadura.

A adoção da prática de inoculação não substitui o uso de fertilizantes nitrogenados e tampouco permite a redução da dose para os híbridos e os sistemas considerados neste trabalho.

A utilização de *Lablab purpureus* como planta de cobertura promove maior desenvolvimento das plantas de milho em sistema de plantio direto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ardakani MR, Mazaheri D, Mafakheri S, Moghaddam A (2011) Absorption efficiency of N, P, K through triple inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces* sp., *Glomus intraradices* and manure application. **Physiology and Molecular Biology of Plants** 17:181-192.

Araújo LAN, Ferreira ME, Cruz MCP (2004) Adubação nitrogenada na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 39:771-777.

Argenta G, Silva PRF, Bortolini CG, Forsthofer EL, Strieder ML (2001) Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** 13:158-167.

Assmann TS, Ronzelli Júnior P, Assmann AL, Koehler HS, Sandini I (2003) Rendimento de milho em área de integração lavoura-pecuária sob o sistema plantio direto, em presença e ausência de trevo branco, pastejo e nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 27:675-683.

Bartchechen A, Fiori CCL, Watanabe SH, Guarido RC (2010) Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* na produtividade da cultura do milho (*Zea mays* L.). **Campo Digit@l** 5:56-59.

Berté LN, Kühl JA, Eninger EM, Zoz T, Castagnara DD, Victor AS, de Oliveira PS, Junior JB, da Costa AC (2010) Características produtivas do milho crioulo e produção de fitomassa no consórcio com diferentes plantas de cobertura. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, **Anais...** Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, p. 1253-1258.

Büll LT (1993) Nutrição mineral do milho. In: Bull LT, Cantarella H (Eds.) **Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: POTAFOS, p. 63-145.

Cantarella H (2007) Nitrogênio. In: Novais RF, Alvarez, VH, Barros NF, Fontes RL, Cantarutti RB, Neves JCL (Eds.) **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 375-470.

Cantarella H, Raij B van, Camargo CEO (1997) Cereais. In: RAIJ B van; Cantarella H, Quaggio JA (Eds.) **Recomendação de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, 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.

Castro PRC, Kluge RA, Sestari I (2008) **Manual de fisiologia vegetal: fisiologia de cultivos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2008. 864 p.

Cavaglieri L, Orlando J, Etcheverry M (2009) Rhizosphere microbial community structure at different maize plant growth stages and root locations. **Microbiological Research** 164:391-399.

Compant S, Clément C, Sessitsch A (2010) Plant growth promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry** 42:669-678.

Conab. Companhia Nacional de Abastecimento (2019) **Acompanhamento da safra brasileira**: séries históricas, 1º e 2º Safra. Brasília: Conab.

Conab. Companhia Nacional de Abastecimento (2020) **Acompanhamento da safra brasileira**: séries históricas, 1º e 2º Safra. Brasília: Conab.

Conab - Companhia Nacional de Abastecimento (2021) **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**: nono levantamento. Brasília: Conab.

Davison J (1988) Plant beneficial bacteria. **Nature Biotechnology** 6:282-286.

Döbereiner J, Pedrosa FO (1987) **Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants**. Madison: Springer. 155 p.

Dobbelaere S et al. (2001) Response of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology** 28:871-879.

Santos HG, Jacomine PKT, Anjos LHC, Oliveira VA, Lumbleras JF, Coelho MR, Cunha TJF (2018) **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5 ed. Brasília: Embrapa. 285 p.

Embrapa - Empresa brasileira de pesquisa agropecuária (2015) **Cultivo do milho**. 9 ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. (Sistemas de Produção, 1).

Fancelli AL, Tsumanuma GM (2007) Nitrogênio e enxofre nas culturas de milho e feijão. In: Silvia TY, Abdalla RS, Vitti GC (Eds.) **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, p. 445-482.

Farinelli R, Lemos LB (2012) Nitrogênio em cobertura na cultura do milho em preparo convencional e plantio direto consolidados. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 42:63-70.

Foster EJ, Hansen N, Wallenstein M, Cotrufo MF (2016) Biochar and manure amendments impact soil nutrients and microbial enzymatic activities in a semi-arid irrigated maize cropping system. **Agriculture Ecosystems & Environment** 223:404-414.

França S, João Mielniczuk 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, J. Nogueira MA, Araujo RS, Hungria, M (2016) Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express** 6:3.

Galindo FS, Teixeira Filho MCM, Buzetti S, Santini JMK, Alves CJ, Nogueira L.M.; Ludkiewicz MG, Andreotti M, Bellotte JL (2016) Maize yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 40:e015036.

Galindo FS, Pagliari PH, Buzetti S, Rodrigues WL, Santini JM, Boleta EH, Rosa PA, Rodrigues Nogueira TA, Lazarini E, Filho MC (2020) Can silicon applied to correct soil acidity in combination with *Azospirillum brasilense* inoculation improve nitrogen use efficiency in maize? **PLoS ONE** 15: e0230954.

Gonçalves CN, Ceretta CA, Basso CJ (2000) Sucessões de culturas com plantas de cobertura e milho em plantio direto e sua influência sobre o nitrogênio no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 24:153-159.

Hungria M, Campo RJ, Souza EM, Pedrosa FO (2010) Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant Soil** 331:413-425.

Hungria M (2011) Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p.

Kloepper JW, Lifshitz R, Zablotowicz RM (1989) Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology** 7:39-43.

Köppen W (1931) **Grundriss der Klimakunde**: Outline of climate science. Berlin: Walter de Gruyter. 388 p.

Lana MC, Dartora J, Marini D, Hann JEH (2012) Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres** 59:399-405.

Lovato T, Mielniczuk J, Bayer C, Vezzani F (2004) 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** 28:175-187.

Brasil (2020) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Estatísticas de Comércio Exterior do Agronegócio Brasileiro (Agrostat)** Disponível em: <<http://indicadores.agricultura.gov.br/agrostat/index.htm>>. Acesso em: 30 jun. 2021.

IGC – International Grains Council. **Supply & Demand**. Disponível em: <www.igc.int/en/markets/marketinfo-sd.aspx>. Acesso em: 26 jun. 2021.

Magalhães PC, Durães FOM (2006) **Fisiologia da produção de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 76).

Martins MR, Jantalia CP, Reis VM, Döwich I, Polidoro JC, Alves BJ, Boddey RM, Urquiaga S (2018) 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** 422:239–250.

Menezes LAS, Leandro WM (2004) Avaliação de espécies de coberturas do solo com potencial de uso em sistema de plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 34:173-180.

Milléo MVR, Cristófoli I (2016) Avaliação da eficiência agronômica da inoculação de *Azospirillum* sp. na cultura do milho. **Revista Scientia Agraria** 17:14 -23.

Morais TP, Brito CH., Ferreira AS, Luz JMQ (2015) Aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímico do solo em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista Ceres** 62:6.

Nunes PHMP, Aquino LA, Santos LPD, Xavier FO, Dezordi LR, Assunção NS (2015) Produtividade do trigo irrigado submetido à aplicação de nitrogênio e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 39:174-82.

Okumura RS, Mariano DC, Zaccheo PVC (2011) Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão Ricardo Shigueru. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias** 4:226–244.

Peché Filho A (2005) **Mecanização do Sistema de Plantio Direto**. Disponível em:<http://www.iac.sp.gov.br/publicacoes/agronomico/pdf/v57_mecanizacaosistema_plantiodireto.pdf>. Acesso em: 18 nov. 2019.

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.

Possamai JM, Souza CM, Galvão JCC (2001) Sistemas de preparo do solo para o cultivo do milho safrinha. **Bragantia** 60:79-82.

Quadros PD, Roesch LFW, Silva FS, Macedo V, Roehs DD, Camargo FAO (2014) Desempenho agrônomo a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres** 61:209-218.

Repke RA, Cruz SJS, Silva CJ, Figueiredo PG, Bicudo SJ (2013) *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** 12:214-226.

Saath KCO, Fachinello AL (2018) Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural** 56:195-212.

Schröder JJ, Neeteson JJ, Oenema O, Struik PC (2000) Does the crop or the soil indicate how to save nitrogen in maize production?: Reviewing the state of the art. **Field Crops Research** 66:151-64.

Silva EC, Buzetti S, Guimarães GL, Lazarini E, Sá ME (2005) 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 EC, Muraoka T, Buzetti S, Trivelin PCO (2006) Manejo de nitrogênio no milho em Latossolo Vermelho sob plantio direto com diferentes plantas de cobertura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 41:477-486.

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 DMG, Lobato E (2004) Adubação com nitrogênio. In: Souza DMG, Lobato E (Eds.) **Cerrado: correção do solo e adubação**. Brasília: Embrapa Cerrados, p. 129-145.

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.

Subedi KD, MA BL (2009) Assessment of some major yield-limiting factors on maize production in a humid temperate environment. **Field Crops Research** 110:21-26.

Vogt GA, Junior AA, Gallotti GJ, Pandolfo CM, Zoldan SR (2015) Desempenho de genótipos de milho na presença ou ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada de cobertura. **Agropecuária Catarinense** 27:49-54.