

INOCULAÇÃO E APLICAÇÃO DE DIFERENTES DOSES DE *Azospirillum brasilense* E SUA INFLUÊNCIA NO DESENVOLVIMENTO DA CULTURA DO MILHO

INOCULATION AND APPLICATION OF DIFFERENT DOSES OF *Azospirillum brasilense* AND ITS INFLUENCE ON THE DEVELOPMENT OF CORN CULTURE

Cristian Rafael Raspe¹ , Djéssica Tatiane Raspe^{2*} 

¹Cooperativa Agroindustrial, Quedas do Iguaçu, PR, Brasil.

²Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

*djessicaraspe@hotmail.com

RESUMO

Benefícios na produtividade dos grãos, com baixo custo econômico, facilidade de aplicação, sem causar danos tóxicos ao meio ambiente e com alto potencial de resposta da cultura, são pontos alvo em pesquisas que envolvam a cultura do milho. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* nas estruturas vegetativas da cultura do milho, vislumbrando incremento no desenvolvimento da planta. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições, totalizando 24 ensaios. Sementes foram inoculadas com *A. brasilense* em diferentes doses do produto comercial (0 - 1000 mL), onde a altura de planta (AP), altura de inserção de espiga (AIE), diâmetro de colmo (DC), número total de folhas (NTF) e número de folhas abaixo da primeira espiga (NFAE), foram avaliadas. A inoculação de sementes de milho a base de estirpe Ab-V5 de *A. brasilense* promoveu influência em algumas variáveis biométricas, havendo aumento no número total de folhas (NTF), altura de planta (AP) e altura da inserção de espiga (AIE) para o híbrido avaliado, resultando em incrementos em seu desenvolvimento vegetativo. A dosagem de 549 mL por hectare foi considerada como propícia para resultarem maiores quantidades de folhas totais (NTF) na planta, de acordo com o ajuste do modelo proposto. Os resultados enfatizaram que a inoculação com esta estirpe é uma técnica válida e cada vez mais utilizada pelos agricultores, sendo seu estudo fator contribuinte para melhorias nos parâmetros agronômicos.

Palavras-chave: Bactérias promotoras de crescimento. Inoculação. Milho.

ABSTRACT

Benefits in grain productivity, with low economic cost, ease of application, without causing toxic damage to the environment and with high potential for crop response, are target points in research involving the cultivation of corn. In this context, the present study aimed to evaluate the effect of inoculation of *Azospirillum brasilense* on the vegetative structures of the corn crop, envisioning an increase in the development of the plant. The experimental design used was completely randomized, with six treatments and four replications, totaling 24 experiments. Seeds were inoculated with *A. brasilense* in different doses of the commercial product (0 - 1000 mL), where the plant height (AP), ear insertion height (AIE), stem diameter (DC), total number of leaves (NTF) and number of leaves below the first ear (NFAE), were evaluated. The inoculation of corn seeds based on *A. brasilense* strain Ab-V5 promoted influence on some biometric variables, with an increase in the total number of leaves (NTF), plant height (AP) and height of ear insertion (AIE) for the evaluated hybrid, resulting in increments in its vegetative development. The dosage of 549 mL per hectare was considered as favorable to result in greater amounts of total leaves (NTF) in the plant, according to the adjustment of the proposed model. The results emphasized that inoculation with this strain is a valid technique and is increasingly used by farmers, and its study is a contributing factor for improvements in agronomic parameters.

Keywords: Corn. Inoculation. Plant growth promoting bacteria.

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.), espécie que pertence à família Gramineae/Poaceae e originada há mais de 8000 anos, é cultivado em muitas partes do mundo. Devido à sua composição nutricional conter grande parte dos aminoácidos conhecidos, esta planta destaca-se largamente tanto na alimentação humana quanto animal (BARROS; CALADO, 2014). Ademais, apresenta potencial como biocombustível, o que promove relevante papel sócio econômico em nossa sociedade (MOHANTY; SWAIN, 2019), o que também auxilia no advento de novas tecnologias para que haja o aumento da produtividade dos grãos.

Sabe-se que o aumento da exigência nutricional do grão ocasiona a necessidade de maior utilização de fertilizantes e, em detrimento disto, aumento nos custos de produção (MATOSO; KUSDRA, 2014). Para tanto, o aprimoramento das técnicas de produção, o desenvolvimento de novos métodos e políticas a fim de se fazer uso racional dos recursos disponíveis, são algumas das medidas desenvolvidas em conformidade com a atual realidade da cultura, que auxiliam na melhora da qualidade do grão (ARTUZO *et al.*, 2018). Além de promover incrementos na produtividade, diminuição dos custos e dar a sustentabilidade no campo, com o eventual decréscimo no uso de fertilizantes danosos ao meio ambiente mantêm-se continuamente estimulada (GALINDO *et al.*, 2018; GALINDO *et al.*, 2019).

Dada a interferência de diversos fatores ligados ao clima, relevo, tipo de solo, manejo, genótipo e suas interações, não é simples prever a quantidade de nitrogênio (N) requerida pelas plantas nem a resposta do milho à fertilização (HURTADO *et al.*, 2009). O que se sabe é que plantas com deficiência em N manifestam caule fino, flores e frutos com má formação e pequenos, há o amarelecimento das folhas mais velhas, com clorose generalizada e perda foliar, podendo o rendimento dos grãos ser afetado entre 14 a 80% (FANCELLI, 2011). Em algumas situações, podem ser visualizadas deformações nas pontas das espigas (MARTINS *et al.*, 2008).

Para sanar tais inconvenientes, ainda é altamente difundido em nosso meio o uso de fertilizantes, cujos quais apresentam em seu processo de produção, alto consumo energético de combustíveis fósseis derivados do petróleo, que tem batido sucessivos recordes de preço no mercado internacional (HUNGRIA, 2011). No Brasil, esses preços foram 50% superiores à inflação, durante o período de 2007-2017 e representaram, em média, 64% do custo operacional, encarecendo o custo de produção (CONAB, 2018). Vislumbrando eliminar estes inconvenientes, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) apresenta relevante influência na produção de grãos e segue sendo continuamente avaliada (CUNHA *et al.*, 2014; MORAIS *et al.*, 2017; PORTUGAL *et al.*, 2017; SANTINI *et al.*, 2018; ALVES *et al.*, 2020; CARMO *et al.*, 2020), uma vez que a substituição do inoculante composto pelas bactérias fixadoras de nitrogênio representa significativa redução de custos na produção (SKONIESKI, 2015).

Esse processo compreende interações entre bactérias diazotróficas, caracterizadas por conterem a enzima nitrogenase, responsáveis por catalisar o nitrogênio atmosférico (N₂) e reduzi-lo em amônia (NH₃), disponibilizando assim, formas absorvíveis de N para as plantas (SANTI *et al.*, 2013; CARMO *et al.*, 2020). A interação entre essas bactérias e sua assimilação, representa o principal atalho para a diminuição da dependência de fertilizantes sintéticos (REIS JÚNIOR *et al.*, 2008), contribuindo adicionalmente para uma agricultura inserida no contexto da economia verde, com elevados níveis de produtividade, baixos custos e baixos impactos ambientais (FREITAS; RODRIGUES, 2010; EMBRAPA, 2011).

As bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), são pertencentes à um grupo de microrganismos benéficos às plantas (REN *et al.*, 2019; KUMAR *et al.*, 2020). Essas bactérias promovem uma série de benefícios na propriedade do solo podendo auxiliar no crescimento vegetal e promover melhoras no meio ambiente, sendo capazes de colonizar a rizosfera, a superfície das raízes das plantas ou os espaços intercelulares destes (AMARAL *et al.*, 2017). Há uma série de ações benéficas atribuídas as BPCV nas plantas inoculadas, dentre as quais a solubilização de fósforo, liberação de fito-hormônios e fixação biológica de N (devido a presença da enzima

nitrogenase) e outras indiretas, como a indução de resistência, diminuição do etileno endógeno e produção de antibióticos (OLIVEIRA *et al.*, 2003). Para tanto, os benefícios da inoculação são de caráter fisiológico, nutricional, morfológico e até mesmo como uma alternativa no controle biológico de patógenos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O aproveitamento dos benefícios produzidos pelos microrganismos procariotos capazes de fixar o N atmosférico e disponibilizá-los às plantas via associação com as raízes vegetais têm sido reportado (COLLETA, 2010; FREITAS; RODRIGUES, 2010; MARCHETTI *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2019). Esse processo gera diversos benefícios, dentre os quais se evidencia o estímulo ao crescimento radicular, deixando-o mais volumoso e, conseqüentemente, apto a absorver maiores quantidades de água e nutrientes, aumentando assim a produção (MARTÍNEZ-MORALES *et al.*, 2003).

O gênero de bactérias *Azospirillum* compreende um grupo de BPCV de vida livre, encontrado em praticamente todas as regiões da terra (DÖBEREINER; PEDROSA, 1987) e apesar de ser constituído de sete espécies, a quase totalidade dos experimentos de inoculação, feitos há mais de 20 anos, referem-se a *Azospirillum brasilense* (REIS JUNIOR *et al.*, 2008). A promoção de crescimento, característico da inoculação dessa bactéria, é resultante da combinação de diversos fatores (HUNGRIA, 2010). A biossíntese sofrida pelos hormônios promotores do crescimento (auxinas, giberelinas, citocinina) e os reguladores de crescimento, solubilização de fósforo e FBN, são exemplos de atuação direta (COELHO *et al.*, 2017). Os mecanismos indiretos, por sua vez, envolvem a biossíntese de hormônios relacionados ao estresse e de compostos antimicrobianos (CASÁN *et al.*, 2008).

Relatos são apresentados com resultados eficientes para várias culturas, como trigo (NOZAKI *et al.*, 2013), arroz (FERREIRA *et al.*, 2013), soja (MASCIARELLI *et al.*, 2014) e milho (VASCONCELOS *et al.*, 2016; ANDRADE *et al.*, 2019; SHAEFER *et al.*, 2019). Hungria (2011) menciona efeitos positivos sob o rendimento, com possibilidade de redução de dosagem de N sem haver comprometimento de perdas em produtividade, quando realizada a inoculação do *A. brasilense*. Fukami *et al.* (2016), em contrapartida, cita que a adubação nitrogenada se faz indispensável, uma vez que a fixação biológica fornece apenas parte do N necessário. Martinez *et al.* (2016) menciona que a simples inoculação resulta na obtenção de ganhos em crescimento e conseqüentemente bons rendimentos. Repke *et al.* (2013), por sua vez, afirma que não há qualquer ganho pela inoculação. Esses achados demonstram que o estudo e pesquisas relacionadas à inoculação da *A. brasilense* e avaliação de seus efeitos são fatores importantes na busca constante por melhorias nos parâmetros agrônômicos.

Apesar de muitos estudos revelarem pontos positivos da inoculação de *Azospirillum* sobre o desenvolvimento das plantas, estudos ainda citam respostas contraditórias, sendo os motivos que afetam nas respostas das culturas ainda desconhecidos. Tal fato corrobora o real interesse no presente estudo, que teve como objetivo avaliar o incremento no desenvolvimento nas estruturas vegetativas da cultura do milho, sob efeito de diferentes doses do inoculante biológico a base de *Azospirillum brasilense*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em propriedade rural particular, situada no município de Entre Rios do Oeste, Paraná. O local está situado na região Oeste do estado, com a área de 131,9 km² a altitude de 230 m, 24° 42' 16" de latitude sul e 54° 14' 03" longitude oeste. O clima da região segundo a classificação de Köppen é do tipo Cfa, Subtropical Úmido Mesotérmico, com precipitação média anual de 1500 mm, verões quentes com tendência de concentração das chuvas (temperatura média superior a 22° C), invernos com geadas pouco frequentes (temperatura média inferior a 18° C), sem estação seca definida (CAVIGLIONE *et al.*, 2000). O solo da área é classificado como latossolo vermelho eutrófico com 70 a 80% de argila (SANTOS *et al.*, 2013).

Antes da instalação do experimento foram coletadas amostras de solo visando sua caracterização química, sob camada de 0-20 cm (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização química da camada de 0-20 cm do solo da área experimental

Composto	Valores
Cálcio (Ca ²⁺)	9,04 cmol/dm ⁻³
Magnésio (Mg ²⁺)	2,15 cmol/dm ⁻³
Potássio (K ⁺)	0,59 cmol/dm ⁻³
Alumínio (Al ³⁺)	0,00 cmol/dm ⁻³
Hidrogênio (H ⁺) Alumínio (Al ³⁺)	5,35 cmol/dm ⁻³
Soma de Bases (SB)	11,78 cmol _c /dm ⁻³
Capacidade de troca de cátions (CTC)	17,13 cmol _c /dm ⁻³
Matéria orgânica (MO)	29,67 g/dm ⁻³
Saturação de bases (V)	68,77%
Fósforo (P)	10,36 mg/dm ⁻³
pH Cloreto de Cálcio (CaCl ₂)	5,40

Fonte: os autores.

O delineamento experimental empregado foi em blocos, com seis tratamentos (T1 = inoculação com 200 mL do produto comercial; T2 = inoculação com 400 mL do produto comercial; T3 = inoculação com 600 mL do produto comercial; T4 = inoculação com 800 mL do produto comercial; T5 = inoculação com 1000 mL do produto comercial e T6 = apenas com água) e quatro repetições. A parcela experimental foi constituída de cinco linhas de cinco metros de comprimento e com espaçamento de 0,70 cm, totalizando 3,5 metros de largura, correspondendo, portanto, a área de 17,5 m². Foi considerada uma área útil de 6,3 m² em cada parcela, sendo que duas linhas laterais e um metro das duas extremidades foram consideradas como bordaduras, portanto, as amostras foram obtidas das três linhas restantes, fazendo-se uso de toda parcela experimental.

O milho utilizado foi o CD 3612 PW, híbrido triplo, semeado no dia 27 de fevereiro de 2018, cultivar de ciclo precoce, geneticamente modificado para resistência a Lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), Broca-do-colmo (*Diatraea saccharalis*), Lagarta-da-espiga (*Helicoverpa zea*), Lagarta-elasma (*Elasmopalpus lignosellus*) e Lagarta-rosca (*Agrotis ipsilon*).

Na adubação de base foram aplicados 300 kg ha⁻¹ do formulado 12-24-12. Aplicou-se o restante da adubação nitrogenada para atender as exigências das plantas em cobertura nos estádios fenológicos com quatro folhas com 100 kg/ha⁻¹ de ureia e oito folhas desenvolvidas com 125 kg/ha⁻¹ de ureia, respectivamente, com 45% de nitrogênio (N). Para a inoculação das sementes em diferentes doses nas sacolas plásticas, foi utilizada de uma seringa, assim o produto foi aplicado diretamente sobre as sementes e depois agitado por um período de 3 min para a mistura total da solução, contendo *Azospirillum brasilense* (BIOMAX Premium estirpe Ab-V5) em cada sacola plástica. O inoculante utilizado apresentava 2x10⁸ células viáveis. mL⁻¹ do produto comercial, utilizando-se a dose de 200 mL de inoculante para 20 kg de sementes.

A semeadura foi realizada manualmente com o emprego de matraca, diretamente sob a palhada residual da cultura da soja. Antes da instalação do experimento a área passou por dessecação, onde foi realizada uma aplicação de Atrazina 500 g.L⁻¹ (Facero SC) na dosagem de 5 L.ha⁻¹ e após a semeadura as plantas daninhas foram controladas por meio de controle mecânico através de capina manual. Para o controle de pragas foi realizada duas aplicações de Metomil 215 g.L⁻¹, produto comercial BrillhanteBR na dosagem de 0,6 L.ha⁻¹. Para o controle de doenças foi

realizada uma aplicação de Ciproconazol 80 g.L⁻¹ + Picoxistrobina 200 g.L⁻¹, produto comercial Approach Prima na dosagem de 0,5 L.ha⁻¹.

As avaliações foram realizadas no estádio R1, onde foram analisadas as características agrônômicas de cinco plantas presentes na área útil de cada parcela separadamente, consistindo de:

1. Altura da planta (AP) – Foi medida a distância do nível do solo ao ponto de inserção da lâmina foliar mais alta, em metros;
2. Diâmetro do colmo (DC) – foi medido entrenós no terço médio da planta; em milímetros;
3. Altura da inserção da espiga (AIE) – Foi medida a distância entre a inserção da espiga mais elevada até o nível do solo, em metros;
4. Número total de folhas (NTF) – Foi contada no estádio R1;
5. Número total de folhas acima da espiga (NFAE) – Foi contada no estádio R1;
6. Relação AP/AIE – Calculada dividindo-se a altura da planta pela altura da inserção da espiga;
7. Relação NFAE/NTF – Calculada dividindo-se o número total de folhas abaixo da espiga pelo número total de folhas;

A partir das médias das parcelas foi realizada a análise de variância, sendo adotado o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + A_j + e_{ij}$$

Onde:

Y_{ijk} : observação feita ao i -ésimo bloco, na j -ésima dose de *Azospirillum brasilense*;

μ : média geral do parâmetro;

B_i : efeito do i -ésimo bloco;

A_j : efeito da j -ésima dose de *Azospirillum brasilense*;

e_{ij} : erro;

A análise de regressão dos dados e o efeito significativo (a nível de 5%) avaliado pelo teste F, foram realizados por meio do programa SAS (SAS INSTITUTE INC., 2014), teste Tukey, com intervalo de confiança de 95%, por meio do software Statistica 8.0 (STATSOFTTM, Inc.) e os gráficos, usando o software Excel®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta as respostas médias dos parâmetros avaliados, diâmetro de colmo (DC), altura de planta (AP), número total de folhas (NTF), número de folhas abaixo da espiga (NFAE) e altura de inserção de espiga (AIE), *sob as diferentes doses da aplicação de inoculante Azospirillum brasilense*. De acordo com a Tabela 2, pode-se constatar que as 5 variáveis resposta apresentaram influência mediante aplicação do inóculo no cultivar avaliado, destacando-se o efeito sob a AP, NTF e AIE. O DC variou de forma significativa, porém não tão pronunciada, de 17,4 a 18,7 mm, onde as doses de 200 e 800 mL resultaram nos maiores diâmetros obtidos (18,7 e 18,2 mm, respectivamente).

A AP, por meio da comparação com a dose controle (0 mL) apresentou um aumento percentual de 6% mediante aplicação da dosagem máxima de 1000 mL, resultando em uma planta com 2,94 mts de altura (Tabela 2). Um aumento na AP associado à inoculação de sementes de milho com *A. brasiliense* também foi observado por Lopes *et al.* (2016), que passou de híbridos com 2,07 mts de altura à 2,36 mts após inoculação, resultado correspondente a um aumento percentual na ordem de 14%.

Tabela 2 - Médias das variáveis avaliadas no estágio reprodutivo (R1) em função da aplicação de diferentes doses de *A. brasilense*

Dose (mL)	DC (mm)	AP (m)	NTF	NFAE	AIE (m)	AP/AIE	NFAE/NTF
0	17,8 ^a	2,77 ^a	13,3 ^a	6,95 ^a	1,29 ^a	0,466 ^a	0,523 ^a
200	18,7 ^b	2,78 ^{ab}	14,5 ^b	7,33 ^b	1,32 ^b	0,482 ^b	0,506 ^b
400	17,7 ^a	2,82 ^{ab}	13,7 ^a	7,25 ^b	1,33 ^b	0,472 ^c	0,529 ^a
600	17,4 ^a	2,83 ^{ab}	14,5 ^b	7,80 ^c	1,37 ^c	0,486 ^b	0,540 ^a
800	18,2 ^b	2,85 ^{ab}	13,8 ^a	7,41 ^{bc}	1,34 ^b	0,470 ^c	0,537 ^a
1000	17,6 ^a	2,94 ^c	13,9 ^a	7,41 ^{bc}	1,38 ^c	0,470 ^c	0,533 ^a

Notas: DC = diâmetro de colmo; AP = altura de planta; NTF = número total de folhas; NFAE = número de folhas abaixo da espiga; AIE = altura de inserção de espiga. Letras diferentes na mesma coluna indicam valores significativamente diferentes entre os ensaios ($p < 0.05$).

Fonte: os autores.

A Tabela 2 evidencia que a ausência e o excesso da aplicação de *A. brasilense* remetem em baixos valores de NTF, cujo qual apresentou uma variação de 13,3 a 14,5, sendo o maior quantitativo obtido sob as dosagens inicial e intermediária de 200 e 600 mL, respectivamente. Houve diferença significativa dos resultados de NFAE e AIE em comparação a dosagem controle (0 mL). Conforme a Tabela 2, os maiores rendimentos foram obtidos sob concentração de 600 mL, para o NFAE (7,80), e 1000 mL para a AIE (1,38 mts). A relação AP/AIE, por sua vez, é feita tendo em vista que plantas de maior porte e com maior altura de inserção de espiga tendem a ser mais produtivas (KAPPES *et al.*, 2014). Uma planta de maior estatura é decorrente de uma nutrição adequada, principalmente de N, que incide diretamente em uma maior produtividade (VALDERRAMA *et al.*, 2011). Nesse trabalho, para a correlação entre AP/AIE, as dosagens de 200 e 600 mL apresentaram resultados significativos, indicando que um excesso de inoculante (800 e 1000 mL) não se faz necessário na obtenção de respostas apreciáveis (Tabela 2).

Efeito similar foi observado na relação NFAE/NTF, (Tabela 2). A área foliar e sua quantificação, em uma cultura, permite inferir o potencial fotossintético, cujo qual depende do número e tamanho das folhas, bem como, do estágio de desenvolvimento das plantas (ALVIM *et al.*, 2010). Tendo em vista que a fotossíntese depende da área foliar, a relação entre as variáveis NFAE/NTF contribui nessa avaliação, uma vez que o rendimento da cultura será maior quanto mais rápido a planta atingir o índice de área foliar máximo e quanto mais tempo a área foliar permanecer ativa (MANFRON *et al.*, 2003). Apesar do resultado da correlação das variáveis NFAE/NTF não ter diferença estatística significativa em relação às demais, vale ressaltar que o maior rendimento encontrado (0,540) também foi obtido sob dosagem de 600 mL de inoculante.

Os quadrados médios resultantes da análise de variância (ANOVA) para as avaliações feitas no estágio reprodutivo (R1) do híbrido em questão, estão apresentadas na Tabela 3. De acordo com os dados da ANOVA (Tabela 3), o F_{calc} foi superior ao F_{tab} à nível de 5% para as variáveis altura de planta (AP), número total de folhas (NTF) e altura de inserção de espiga (AIE), indicando viabilidade e validade do modelo proposto frente aos dados experimentais obtidos.

Tabela 3 - Quadrados médios resultantes da ANOVA para as variáveis avaliadas no estágio reprodutivo (R1) de híbridos inoculados com *A. brasilense*

	GL	DC	AP	GL	NTF	NFAE	AIE
Blocos	3	0,946	0,04	3	0,2935	0,145	0,0016
Doses	5	0,491	0,0125*	5	0,8292*	0,303	0,0045*
Erro	13	0,591	0,0046	14	0,0680	0,180	0,0011
CV (%)		4,31	2,38		1,87	5,77	2,53
Média		17,82	2,83		13,92	7,35	1,34

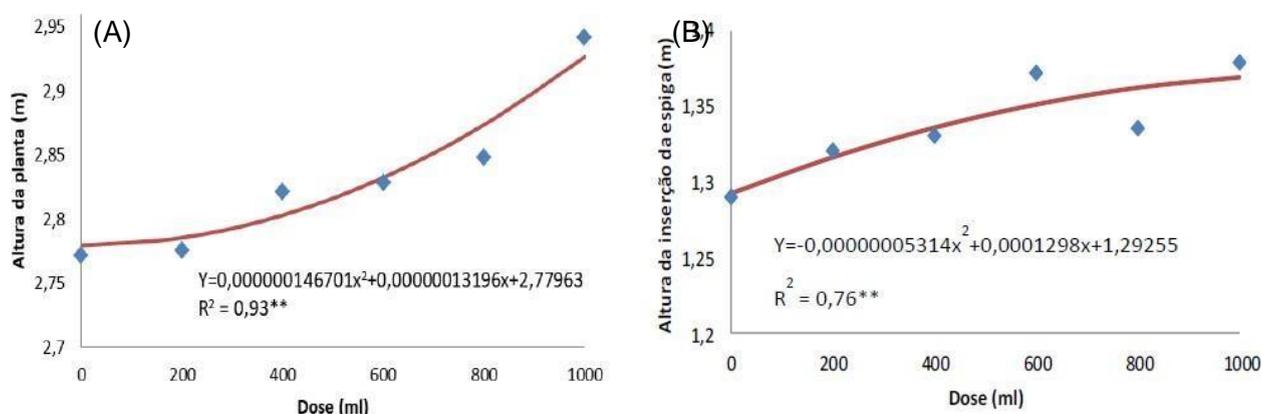
Notas: *significativo a nível de 5%, pelo teste F.

Fonte: os autores.

A Figura 1A representa o ajuste quadrático correspondente à crescentes da variável AP em função das doses do inoculante, conforme descrito na Tabela 2. O coeficiente de determinação (R^2) da variável AP obtido pelo modelo proposto foi de 0,93, que indica elevado grau de correlação entre os valores observados e previstos, correspondente à uma tendência de crescimento diretamente proporcional a dosagem de *A. brasilense* (Figura 1A). Esse achado difere de trabalhos como o de Lana *et al.* (2012), Dartora *et al.* (2013) e Rockenbach *et al.* (2017), que não verificaram respostas da cultura do milho quanto à AP e DC frente a inoculação da bactéria. Diferente do presente trabalho, que constatou diferença significativa na AP com a adição do inóculo, Lana *et al.* (2012) constatou que a AP não sofreu alteração sob efeito isolado da inoculação com *A. brasilense*, tanto quanto em associação à base de N e fertilização com N em cobertura, atribuindo influência à genética do híbrido. Dartora *et al.* (2013), por meio da inoculação com a estirpe *A. brasilense*, não obteve incrementos significativos na AP e DC na fase R1 do híbrido de milho 30R50. Seus valores ficaram na ordem de 2,47 e 2,46 mts e 26 e 27 mm de AP e DC, em plantas com e sem inoculação, respectivamente. Rockenbach *et al.* (2017) por sua vez, não observou a AP e DC afetados de forma significativa pela aplicação de diferentes doses de *A. brasilense*. Sem o inóculo, a AP e DC apresentaram valores de 1,96 mts e 24,6 mm, enquanto mediante 1 e 2 vezes a dose de inoculante (150 mL de produto para cada 20 kg de sementes, conforme recomendação do fabricante), rendimentos de 2,01 mts e 25,9 mm, e 1,99 mts e 25,9 mm na AP e DC foram verificados, respectivamente.

Alguns estudos consideram que os benefícios adquiridos nas demais variáveis proveram tão somente da fixação biológica do nitrogênio atmosférico (DOBBELAERE *et al.*, 2001). Outros, por sua vez, justificam o comportamento dessa variável pela disponibilidade de nitrogênio no solo, uma vez que este nutriente participa diretamente da divisão e expansão celular e do processo fotossintético (REPKE *et al.*, 2013). Todavia, estudos feitos posteriormente evidenciaram que os efeitos positivos proporcionados por estes microrganismos eram, essencialmente, resultantes de alterações morfológicas e fisiológicas no sistema radicular das plantas inoculadas (VOGEL *et al.*, 2013). Essas alterações, correspondentes ao NTF, área foliar (AF), AP e AIE, por exemplo, contribuem na melhora da absorção de água e nutrientes, com maior eficiência nos processos fotossintéticos e de transporte de solutos orgânicos pelos tecidos vegetais (SOUSA *et al.*, 2012), trazendo como consequência, o aumento da produtividade dos grãos (VOGEL *et al.*, 2013). Para tanto, tendo em vista que a composição estrutural da planta de milho pode determinar o potencial produtivo do híbrido (ALVES *et al.*, 2013), alterações nessas características podem provocar desequilíbrio fisiológico nas plantas, resultando na redução da produtividade dos grãos da cultura (SOUSA *et al.*, 2012).

Figura 1 - Altura de plantas (A) e altura de inserção de espiga (B) de plantas no estágio reprodutivo (R1) em função da aplicação de doses de *Azospirillum brasilense*



Fonte: os autores.

Apesar do coeficiente de determinação (R^2) da altura de inserção de espiga (AIE) da curva obtida estar relativamente baixo (76%), seu efeito apresentou ser significativo frente à aplicação de doses de *A. brasilense*, conforme Figura 1B. Nesse caso, a maior AP atrelada à AIE verificada em plantas inoculadas, quando comparada à planta controle (Tabela 2), pode ser explicada devido a produção de substâncias promotoras de crescimento pelas bactérias (KAPES *et al.*, 2013). Estes autores, ao investigar a inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho observaram valores médios de 115,0 cm em plantas tratadas com *A. brasilense*, valor superior quando comparado à média de plantas sem inoculação (111,8 cm). Besen *et al.* (2019) ao avaliarem a produtividade do milho em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada, demonstram aumento nas variáveis altura de inserção da espiga (AIE) e diâmetro do colmo (DC). Segundo os autores, a produtividade de uma safra está correlaciona não somente com componentes do rendimento, mas também com os parâmetros relacionados ao seu crescimento (BESEN *et al.*, 2019), para tanto, sua investigação é primordial.

É no colmo que fica armazenada grande parte das reservas de amido, carboidrato responsável pela manutenção da demanda nutricional requerida no estágio de florescimento das plantas, desenvolvimento das espigas e que é utilizado posteriormente no enchimento dos grãos (REPKE *et al.*, 2013; ROCKENBACH *et al.*, 2017). Neste trabalho, o parâmetro diâmetro de colmo (DC) apresentou acréscimo significativo, porém, não foi influenciado grandemente pela inoculação em diferentes doses da bactéria, conforme demonstrado na Tabela 2. Este dado é similar ao reportado por Kappes *et al.* (2013), que avaliaram o desempenho agrônômico do milho cultivado em sistema de plantio direto inoculado com *A. brasilense* e fertilizado com nitrogênio em cobertura, onde as diferenças no DC não foram encontradas. Sob esse parâmetro a ineficácia da inoculação com *A. brasilense* também foi mencionada por Rockenbach *et al.* (2017).

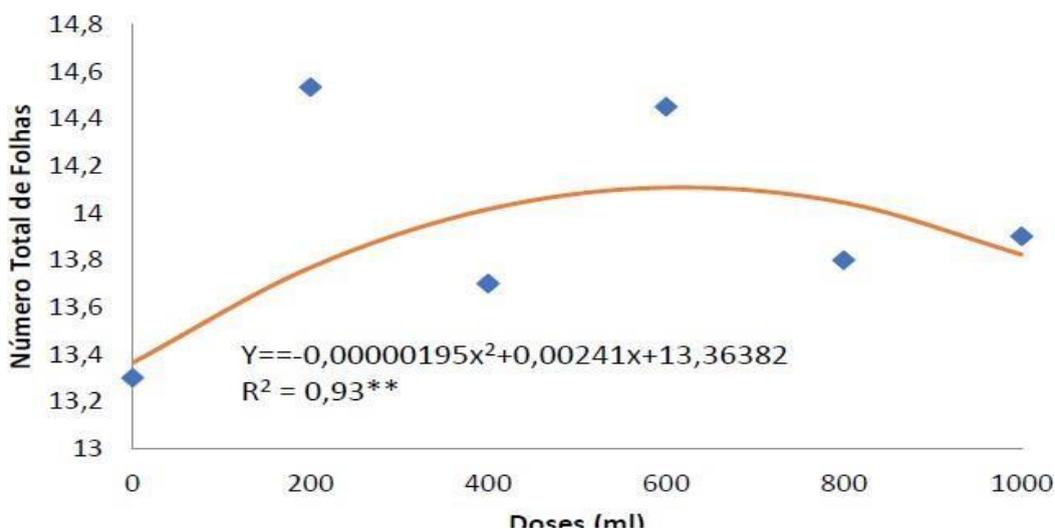
O NFAE é outro parâmetro que também não foi afetado mediante a inoculação (Tabela 2). Isso denota que as interações entre adubação nitrogenada e *Azospirillum brasilense* em plantas de milho ainda não são claras. Sabe-se que a folha da espiga e as folhas ligeiramente abaixo e acima da espiga podem representar cerca de 33% a 40% da área total da planta (PATKY, 1992). Próximo ao florescimento, ocorre perda de cerca de 25% da área foliar do milho, que pode promover redução de produção na ordem de 32% (FANCELLI, 1988). Quando se dá início ao período crítico da cultura, correspondente à fase de pendramento, até a fase de grão pastoso ou apenas “milho verde”, há o maior índice de área foliar do cultivar em questão. Neste ponto, as folhas apresentam características específicas, onde maiores índices de área foliar são correspondentes à folha da espiga e as folhas acima e abaixo da espiga. Redução dessa área foliar implica em queda significativa na produtividade, redução na qualidade de colmo e grãos (SCALON *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2007; ALVIM *et al.*, 2011).

O NTF é um parâmetro importante, pois é o que torna as plantas mais eficientes no uso da radiação solar e, conseqüentemente, promove aumento na taxa de fotossíntese e crescimento (OLIVEIRA *et al.*, 2006). A inoculação do híbrido avaliado com *A. brasilense* proporcionou aumento dessa variável (NTF) (Tabela 2). Nota-se que com a aplicação de diferentes doses do inoculante, um comportamento quadrático do NTF em resposta ao aumento na dosagem do produto foi verificado (Figura 2). Isso infere que, em virtude do ajuste do modelo, a estimativa de aplicação do inoculante na dosagem de 549 mL.ha⁻¹ seria a ideal para o híbrido em questão, proporcionando maiores quantidades de folhas. Vale ressaltar que fora deste ponto, houve baixa resposta ou decréscimo deste parâmetro, afetando negativamente este componente morfológico, corroborando com o visto e discutido anteriormente por meio da análise individual de cada variável (Tabela 2).

O incremento no índice de área foliar propicia uma interceptação mais efetiva da luz (TOLLENAAR, 1997). Segundo Sinclair (1998), o acréscimo da produção de matéria seca de uma cultura está relacionado ao aumento do nível de radiação interceptado pelo seu dossel (DWYER *et al.*, 1991). Segundo Tollenaar e Aguilhera (1992), ocorre um aumento na eficiência do uso da radiação durante o período de enchimento de grãos híbridos, o que resulta em maiores produções

por planta e maior produtividade final. Arelada ao uso de inoculante contendo *A. brasilense*, relata-se a relação que a capacidade dessa bactéria diazotrófica possui na fixação de N atmosférico, sendo capaz de produzir substâncias que possuam relação com o crescimento vegetal, aumentando a atividade da enzima nitrato redutase e solubilizando fosfatos do solo (PEREIRA *et al.*, 2013; FUKAMI *et al.*, 2018; LOPES *et al.*, 2019).

Figura 2 - Número total de folhas de plantas de milho em função da aplicação de doses de *Azospirillum brasilense*



Fonte: os autores.

Apesar de respostas incongruentes serem encontradas ao avaliar o efeito da *A. brasilense*, o uso de inoculantes com bactérias do gênero *Azospirillum* pode ser considerado uma prática promissora (ZEFFA *et al.*, 2018). A divergência de resultados encontrada na literatura ocorre em decorrência de aspectos relacionados ao solo, como matéria orgânica, textura, comunidade bacteriana nativa, além do regime hídrico após aplicação de N e os próprios tipos de cultivares ao qual se faz a aplicação (SKONIESKI *et al.*, 2017). Logo, o aprofundamento de pesquisas na temática se faz necessária, vislumbrando uma melhor compreensão do efeito dessa bactéria sobre a cultura do milho em prol, ademais, de resultados em outras variáveis biométricas, nutricionais e fisiológicas.

CONCLUSÃO

Levando-se em consideração as características experimentais obtidas, pode-se concluir que a inoculação de sementes de milho a base de estirpe Ab-V5 de *A. brasilense*, na dosagem de 549 mL por hectare, promoveu influência em algumas variáveis biométricas, havendo aumento NTF, AP e AIE para o híbrido avaliado e resultando em incrementos no desenvolvimento vegetativo da cultura. O modelo ajustado permitiu estimar o efeito da aplicação do inoculante, promovendo, dessa forma, a obtenção de dados que contribuam na melhora dos parâmetros agrônômicos da cultura em questão. Vale destacar, como avaliação geral, que as variações genótípicas e fenotípicas do híbrido de milho testado, bem como a existências de relações específicas entre o material vegetal e as bactérias. Para tanto, trabalhos desta natureza são significativos no fornecimento de informações sobre estas relações e contribuem na busca de interações positivas desta simbiose, que resulta na possibilidade de redução das quantidades de fertilizantes minerais aplicados na cultura, sem acarretar perdas à produtividade. Isso contribui, principalmente, para produtores com menor capacidade de investimento em fertilizantes nitrogenados, de tal modo que as atividades agrícolas para a cultura do milho tornem-se mais habitáveis e economicamente sustentáveis.

REFERÊNCIAS

- ALVES, V. B. *et al.* Morfologia e produtividade de híbridos de milho safrinha solteiro e consorciado com braquiária. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 2, p. 152-163, 2013.
- ALVES, M. V. *et al.* Corn seed inoculation with *Azospirillum brasilense* in different nitrogen fertilization management. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 15, n. 3, e8100, p. 1-6, 2020.
- ALVIM, K. R. T. *et al.* Quantificação da área foliar e efeito da desfolha em componentes de produção de milho. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1017-1022, 2010.
- ALVIM, K. R. T. *et al.* Redução da área foliar em plantas de milho na fase reprodutiva. **Revista Ceres**, v. 58, n. 4, p. 413-418, 2011.
- AMARAL, M. B. *et al.* Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal: uma revisão de literatura. XXI Encontro Latino Americano de Iniciação. In: Científica, XVII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e VII Encontro de Iniciação à Docência – Universidade do Vale do Paraíba, **Anais**. Universidade do Vale do Paraíba. 2017.
- ANDRADE, A. F. *et al.* *Azospirillum brasilense* inoculation methods in corn and sorghum. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 49, e53027, p. 1-9, 2019.
- ARTUZO, F. D. *et al.* Gestão de custos na produção de milho e soja. **Revista Brasileira de Gestão de Negócios**, v. 20, n. 2, p. 273-294, 2018.
- BARROS, J. F. C.; CALADO, J. G. **A cultura do milho**. Universidade de Évora, Escola de Ciências e Tecnologia – Departamento de Fitotecnia, 2014.
- BESEN, M. R. *et al.* Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada em clima subtropical. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 18, n. 2, p. 257-268, 2019.
- CARMO, K. B. *et al.* Desempenho agrônomico do milho safrinha em resposta a doses de nitrogênio combinadas com inoculante biológico em Mato Grosso. **Scientific Electronic Archives**, v. 13, n. 7, p. 95-101, 2020.
- CAVIGLIONE, J. H. *et al.* **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR. CD-ROM. 2000.
- COELHO, A. E. *et al.* Inoculação de Sementes com *Azospirillum brasilense* em Plantas de Milho Submetidas à Restrição Hídrica. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 16, n. 2, p. 186-192, 2017.
- COLLETA, L. D. **Estudo da fixação biológica do nitrogênio em leguminosas (família Fabaceae) arbóreas tropicais através do enriquecimento isotópico do ¹⁵N**. 2010. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.
- CONAB. A Cultura do Milho: análise dos custos de produção e da rentabilidade nos anos-safra 2007 a 2017. **Compêndio de estudos Conab**, v. 14, p. 1-50, 2018.

CUNHA, F. N. *et al.* Efeito da *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no sudoeste goiano. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n. 3, p. 261-272, 2014.

DARTORA, J. *et al.* Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 10, p. 1023-1029, 2013.

DOBBELAERE, S. *et al.* Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 28, n. 9, p. 871-879, 2001.

DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F. O. **Nitrogen-fixing bacteria in non leguminous crop plants**. Madison: Science Tech, 1987,155p.

DWYER, L. M.; TOLLENAR, M.; STEWART, D. W. Changes in plant density dependence of leaf photosynthesis of maize (*Zea mays* L.) hybrids, 1959 to 1988. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 71, n. 1, p. 1-11, 1991.

EMBRAPA. **Fixação biológica do nitrogênio**. Disponível em: <www.embrapa.br/tema-fixacao-biologica-de-nitrogenio/nota-tecnica>. Acesso em 16 de junho de 2020.

FANCELLI, A. L. **Influência do desfolhamento no desempenho de plantas e de sementes de milho (*Zea mays* L.)**. 1988. 172 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

FANCELLI, A. L. **Fenologia, fisiologia da produção e implicações práticas de manejo**. In: Milho: produção e produtividade, Piracicaba: USP/ESALQ/LPV, 2011, p. 1-34.

FERREIRA, E. P. B.; KNUPP, A. M.; MARTIN-DIDONET, C. C. G. Crescimento de Cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) influenciado pela inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p. 655-665, 2013.

FREITAS, I. C. V.; RODRIGUES, M. B. Fixação biológica do nitrogênio na cultura do milho. **Agropecuária Técnica**, v. 31, n. 2, p. 143-154, 2010.

FUKAMI, J. *et al.* Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v. 6, p. 1-13, 2016.

FUKAMI, J. *et al.* *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, n. 73, p. 1-12, 2018.

GALINDO, F. S. *et al.* Technical and economic viability of maize with *Azospirillum brasilense* associated with acidity correctives and nitrogen. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 3, p. 213-227, 2018.

GALINDO, F. S. *et al.* Maize Yield Response to Nitrogen Rates and Sources Associated with *Azospirillum brasilense*. **Agronomy Journal**, v. 111, n. 4, p. 1985-1997, 2019.

HUNGRIA, M. *et al.* Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil Science**, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, 2010.

- HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo.** Londrina: EMBRAPA-SOJA, 2011. 38p.
- HURTADO, S. M. C. *et al.* Variação espacial da resposta do milho à adubação nitrogenada de cobertura em lavoura no Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 300-309, 2009.
- KAPPES, C. *et al.* Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 527-538, 2013.
- KAPPES, C. *et al.* Manejo do nitrogênio em cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n. 2, p. 201-217, 2014.
- KUMAR, A. *et al.* Plant Growth-Promoting Bacteria: Biological Tools for the Mitigation of Salinity Stress in Plants. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. 1216, p. 1-15, 2020.
- LANA, M. C. *et al.* Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012.
- LOPES, M. M. *et al.* **Altura de plantas de milho em diferentes métodos de inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*.** Anais do XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Inovações, Mercados e Segurança Alimentar. Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul, 2016.
- LOPES, V. R. *et al.* Interaction between sugarcane families and plant growth-promoting bacteria in two crop cycles. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 2, p.527-538, 2019.
- MANFRON, P. A. *et al.* Modelo do índice de área foliar da cultura do milho. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 11, n. 2, p. 333-342, 2003.
- MARCHETTI, M. M.; SANTOS, J. C. P.; BARATTO, C. M. Caracterização de bactérias em nódulos de leguminosas arbóreas de fragmentos da floresta ombrófila mista. **Revista Scientia Agrária**, v. 18, n. 4, p. 50-62, 2017.
- MARTÍNEZ-MORALES, L. J. *et al.* Indole-3-butyric acid (IBA) production in culture medium by wild strain *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 228, n. 2, p. 167-173, 2003.
- MARTINEZ, S. B. *et al.* Production and response to *Azospirillum brasilense* inoculation in two globe artichoke hybrids. **Acta Horticulturae**, v. 1147, p. 213-216, 2016.
- MARTINS, A. O. *et al.* Nitrogen-use efficiency of maize genotypes in contrasting environments. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, p. 291-298, 2008.
- MASCIARELLI, O.; LLANES, A.; LUNA, V. A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation. **Microbiological Research**, v. 169, n. 7-8, p. 609-615, 2014.
- MATOSO, S. C. G.; KUSDRA, F. Nodulação e crescimento do feijoeiro em resposta à aplicação de molibdênio e inoculante rizobiano. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 6, p. 567-573, 2014.

MOHANTY, S. K.; SWAIN, M. R. Bioethanol Production from Corn and Wheat: **Food, Fuel, and Future**. Bioethanol Production from Food Crops, In: Sustainable Sources, Interventions, and Challenges, p.45-59, 2019.

MORAES, G. P. *et al.* Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 38, n. 3, p. 109-116, 2017.

MOREIRA F. M. S.; SIQUEIRA J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 449-542p.

NOZAKI, M. H.; LORENZATTO, R.; MANCINI, M. Efeito do *Azospirillum* spp. em associação com diferentes doses de adubação mineral na cultura do trigo. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 17, n. 6, p. 27-35, 2013.

OLIVEIRA, A. L. M. *et al.* Response of micropropagated sugarcane varieties to inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 1, p. 59-61, 2003.

OLIVEIRA, A. L. M. *et al.* Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, v. 284, n. 1, p. 23-32, 2006.

PATAKY, J. K. Relationships between yield of sweet corn and northern leaf blight caused by *Exserohilum turcicum*. **Phytopathology**, v. 82, n. 3, p. 370-375, 1992.

PEREIRA, W. *et al.* Acúmulo de biomassa em variedades de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 2, p. 363-370, 2013.

PORTUGAL, J. R. *et al.* Coberturas vegetais, doses de nitrogênio e inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho no Cerrado. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 4, p. 639-649, 2017.

REIS JÚNIOR, F. B. *et al.* Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 1139-1146, 2008.

REN, X-M. *et al.* Effects of Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) Inoculation on the Growth, Antioxidant Activity, Cu Uptake, and Bacterial Community Structure of Rape (*Brassica napus* L.) Grown in Cu-Contaminated Agricultural Soil. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. 1455, p. 1-12, 2019.

REPKE, R. A. *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.

ROCKENBACH, M. D. A. *et al.* Eficiência da aplicação de *Azospirillum brasilense* associado ao nitrogênio na cultura do milho. **Acta Iguazu**, v. 6, n. 1, p. 33-44, 2017.

SANTI, C.; BOGUSZ, D.; FRANCHE, C. Biological nitrogen fixation in nonlegume plants. **Annals of Botany**, v. 111, n. 5, p. 743-767, 2013.

- SANTINI, J. M. K. *et al.* Doses and forms of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize crop. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 373-377, 2018.
- SANTOS, H. G. *et al.* **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353p.
- SCALON, S. P. Q. *et al.* Crescimento inicial de mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns sob condições de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 27, n. 6, p. 753-758, 2003.
- SCHAEFER, P. E. *et al.* Inoculation with *Azospirillum brasilense* on corn yield and yield components in an integrated crop-livestock system. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 41, n. 1, e39481, p. 1-9, 2019.
- SILVA, M. B.; RODRIGUES, L. F. O.; MANSANO, A. R. *Azospirillum* e suas vantagens para a cana-de-açúcar. **Revista Campo & Negócios [online]**, 2019. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/azospirillum-e-suas-vantagens-para-a-cana-de-acucar/>
- SILVA, O. C; SCHIPANSKI, C. A.; VEIGA, J. Obstáculo à produção. **Cultivar Grandes Culturas**, n. 94, p. 3-10, 2007.
- SINCLAIR, T. R. Historical changes in harvest index and crop nitrogen accumulation. **Crop Science**, v. 38, n. 2, p. 638-643, 1998.
- SKONIESKI, F. R. **Inoculação de *Azospirillum brasiliense* e doses de nitrogênio em milho para a produção de silagem e grãos**. 2015. 94p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2015.
- SKONIESKI, F. R. *et al.* Effect of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization rates on maize plant yield and silage quality. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 9, p. 722-730, 2017.
- SOUSA, G. G. *et al.* Crescimento inicial do milho sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino irrigado com águas salinas. **Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 2, p. 237-245, 2012.
- TOLLENAAR, M.; AGUILHERA, A. Radiation on use efficiency of an old and new maize hybrid. **Agronomy Journal**, v. 84, n. 3, p. 536-541, 1992.
- TOLLENAAR, M. Is low plant density a stress in maize? **Maydica**, n. 37, p. 305-311, 1997.
- VALDERRAMA, M. *et al.* Fontes e doses de NPK em milho irrigado sob plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 2, p. 254-263, 2011.
- VASCONCELOS, A. C. P. *et al.* Seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and N fertilization of corn in the Cerrado biome. **Revista Ceres**, v. 63, n. 5, p. 732-740, 2016.
- VOGUEL, G. F. *et al.* Desempenho agrônômico de *Azospirillum brasilense* na cultura do arroz: uma revisão. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 6, n. 3, p. 567-578, 2013.
- ZEFFA, D. M. *et al.* The influence of topdressing nitrogen on *Azospirillum* spp. inoculation in maize crops through meta-analysis. **Bragantia**, v. 77, n. 3, p. 493-500, 2018.