

AVALIAÇÃO DE INOCULANTES BIOLÓGICOS ASSOCIADOS À ADUBAÇÃO NITROGENADA REDUZIDA NOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E PRODUTIVIDADE DE MILHO SAFRINHA

BÁRBARO-TORNELLI, Ivana Marino¹; **FINOTO**, Everton Luis²; **TOKUDA**, Flávio Sueo³; **SANTOS**, Guilherme Xavier Lúcio⁴; **MARTINS**, Mônica Helena⁴; **CORDEIRO-JUNIOR**, Paulo Sérgio⁴; **PASQUETTO**, João Vitor Gomes⁵; **GASPARINO**, Adriano Custódio⁶; **BORGES**, Wander Luis Barbosa⁷; **FREITAS**, Rogério Soares de⁷; **MATEUS**, Gustavo Pavan⁸; **HIPOLITO**, Jorge Luiz⁹; **CAZENTINI-FILHO**, Gerson¹⁰; **CASTELETI**, Marcelo Luiz¹¹

ISSUE DOI: 10.3738/1982.2278.3007

RESUMO: É importante buscar alternativas para atenuar o uso de adubos nitrogenados em milho, visto que, estes são de alto custo. Objetivou-se estudar os efeitos da inoculação e co-inoculação em diferentes doses e modos de aplicação associadas à adubação nitrogenada reduzida em parâmetros fisiológicos e componentes de produção de milho safrinha. O experimento foi instalado na safrinha de 2017, em área experimental da APTA de Colina, SP. Estudaram-se oito tratamentos: controle, adubações nitrogenadas nas doses de 55 e 110 kg ha⁻¹ de N, 55 kg ha⁻¹ de N + inoculação com *Azospirillum* na dose de 0,1 L ha⁻¹ na semente, 55 kg ha⁻¹ de N + co-inoculação (*Bradyrhizobium* e *Azospirillum*) no tratamento de sementes nas doses de 0,05 e 0,1 L ha⁻¹ para cada inoculante e 55 kg ha⁻¹ de N + co-inoculação aplicada nos estádios V3-V4 nas doses de 0,2 e 0,3 L ha⁻¹ para cada inoculante. O delineamento foi o de blocos ao acaso com 4 repetições, com 32 parcelas. Foram avaliados alguns parâmetros no florescimento e componentes de produção por ocasião da maturação. Nota-se alta significância estatística para a maioria dos parâmetros nos diferentes tratamentos testados. De modo geral, maiores incrementos quanto aos componentes de produção foram obtidos com a inoculação com *Azospirillum* no tratamento de sementes que foi equivalente à prática da co-inoculação com uso das maiores doses de inoculantes via aplicação por pulverização com o jato dirigido sobre o solo entre V3-V4, sendo ambas práticas associadas a adubação nitrogenada reduzida. Sugere-se estudos mais aprofundados no tema envolvendo diferentes locais e safras visando ratificação dos resultados.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Inoculação mista. *Azospirillum*. Modo de aplicação

EVALUATION OF BIOLOGICAL INOCULANTS ASSOCIATED WITH REDUCED NITROGEN FERTILIZATION IN PHYSIOLOGICAL PARAMETERS AND PRODUCTION OF CORN CROP

SUMMARY: It is important to seek alternatives to mitigate the use of nitrogenous fertilizers in maize, since these are of high cost. The objective of this study was to study the effects of inoculation and co-inoculation in different doses and modes of application associated with reduced nitrogen fertilization in maize production components. The experiment was installed in the 2017, in an APTA experimental area of Colina, SP. Eight treatments were evaluated: control, 55 and 110 kg ha⁻¹ of N, 55 kg ha⁻¹ of N + inoculation with *Azospirillum* at a dose of 0,1 L ha⁻¹ in the seed, 55 kg ha⁻¹ of N + coinoculation (*Bradyrhizobium* and *Azospirillum*) in the treatment of seeds at doses of 0,05 and 0,1 L ha⁻¹ for each inoculant and 55 kg ha⁻¹ of N + co-inoculation applied at V3-V4 stages at doses of 0,2 and 0,3 L ha⁻¹ for each inoculant. The experimental design was a randomized block design with four replications, with 32 plots. Some parameters were evaluated in flowering and components of production at maturity. High statistical significance

¹ Pesquisadora Científica, Dra. - APTA - PRDTA da Alta Mogiana, Colina, SP;

² Pesquisador Científico, Dr. - APTA - PRDTA Centro Norte, Pindorama, SP;

³ Assistente Agropecuário - CATI - CA Riolândia, Riolândia, SP;

⁴ Bolsistas de Aperfeiçoamento Técnico APTA-FUNDAG;

⁵ Empresa Stoller do Brasil Ltda;

⁶ Assistente Agropecuário - CATI - CA Pontes Gestal, Pontes Gestal, SP;

⁷ Pesquisador Científico, Dr. - IAC - CAP Seringueira e Sistemas Agroflorestais, Votuporanga, SP;

⁸ Pesquisador Científico, Dr. - APTA - PRDTA Extremo Oeste, Andradina, SP;

⁹ Assistente Agropecuário - CATI - DSMM - NPS, Araçatuba, SP;

¹⁰ Assistente Agropecuário - CATI - DSMM - NPS, Manduri, SP;

¹¹ Assistente Agropecuário - CATI - DSMM - NPS, Fernandópolis, SP.

was observed for most of the parameters in the different treatments tested. In general, greater increases in the production components were obtained with the inoculation with *Azospirillum* in the treatment of seeds, which was equivalent to the practice of co-inoculation with the use of higher doses of inoculants by spray application with the spray directed to the soil between V3-V4, both practices being associated with reduced nitrogen fertilization. More detailed studies involving different locations and harvests aiming at ratifying the results are suggested.

Keywords: *Zea mays* L. Mixed inoculation. *Azospirillum*. Modes of application

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é cultivado em todo território mundial, sendo que fatores como a fertilidade do solo e o nível tecnológico adotado no uso de insumos afetam diretamente a produção, sendo a produtividade da cultura garantida pela utilização de elevadas quantidades de adubos nitrogenados (MAJEROWICZ et al., 2002; DARTORA et al., 2013; JORDÃO; MUNIZ, 2014).

O nitrogênio (N) é um elemento essencial ao crescimento, desenvolvimento e produção das plantas e, por conta disso, é o nutriente mais limitante à produção. A essencialidade e importância do N para as plantas fundamentam-se no fato deste elemento estar presente em moléculas vitais como ácidos nucléicos, proteínas e clorofila (NOVOA; LOOMIS, 1981; CANTARELLA, 1993; OKUMURA et al., 2011).

O fornecimento do N via fertilizantes químicos é um dos, senão o principal, fator responsável pelo alto custo de produção da cultura, pois a conversão industrial, por meio da quebra da molécula de N₂ para a obtenção dos adubos nitrogenados é um processo dispendioso, aumentando o custo e limitando a produção (PEREIRA, 2014; PEREIRA et al., 2015). Uma das alternativas para assegurar elevadas produtividades com redução no consumo de fertilizantes nitrogenados consiste na inoculação com bactérias diazotróficas, que possuem a capacidade de fixação de N atmosférico no solo, deixando-o disponível às plantas (HUNGRIA, 2011). Nessa associação não simbiótica ocorre a colonização da rizosfera pelas bactérias e não há penetração delas nos tecidos radiculares nem formação de nódulos como na soja. Além disso, essas bactérias estimulam a produção de hormônios nas plantas, como a auxina, que promove o crescimento de raízes, refletindo-se em maior capacidade de uso de água e nutrientes, sobretudo em situações de seca ou salinidade (TIEN et al., 1979). Estudos foram conduzidos principalmente com a Embrapa-Soja e empresas privadas utilizando inoculantes com formulação líquida ou sólida (turfa) à base de *Azospirillum* que culminaram na seleção de estirpes com características importantes como maior sobrevivência no solo, maior promoção de crescimento das plantas e maior adaptação às tecnologias utilizadas nas culturas do milho e trigo. Atualmente as empresas produtoras de inoculantes priorizam a utilização de *Azospirillum brasilense* das estirpes AbV5 e AbV6 (HUNGRIA, 2011; LIBÓRIO et al., 2016).

Contudo, apesar da inoculação com *A. brasilense* ser uma tecnologia barata e de baixo impacto ambiental, sua indicação técnica ainda precisa ser melhorada, levando-se em conta, entre outros aspectos, os genótipos e o nível de investimento adotado na lavoura. Adicionalmente, é necessário buscar e avaliar novas estirpes, e tipos de formulações de inoculantes para aumentar a eficiência da inoculação com o objetivo de diminuir a dose de fertilizantes nitrogenados ou aumentar o rendimento de grãos da cultura do milho (PANDOLFO et al., 2015). Outros benefícios associados foram relatados em estudo de avaliação do efeito da inoculação com *A. brasilense* AZ39 em dois genótipos de milho, cultivados em anos, locais e manejos diferentes. Neste estudo, foi verificado que a inoculação promoveu incremento de 15,4% e 7,4% na produção de grãos no primeiro e no segundo ano do experimento, respectivamente, em relação ao tratamento que não recebeu fertilização com nitrogênio e inoculação (LANA et al., 2012). Além disso,

existe a necessidade de elucidar a interação entre inoculação e a aplicação de N, em razão da diversidade de resultados obtidos nas mais diversas situações em que ele foi empregado (PANDOLFO et al., 2015).

Considerando-se ainda que no Estado de São Paulo, o milho segunda safra, mostrou incremento em área plantada de 2,6% em relação ao ano anterior 2015/16, e que boas condições climáticas previstas para a lavoura dão suporte à crença de safra recorde neste ano, atingindo 2319,5 mil toneladas, com um incremento de 58,7% em relação à safra 2015/16. Todavia, sabe-se que a cultura do milho é plenamente adaptada às condições climáticas do período de safra, as quais, as condições adequadas de manejo, favorece o desenvolvimento da cultura, de modo que a interação com microorganismos presentes no solo é pouco pronunciada. Entretanto, o milho segunda safra quase sempre é cultivado em condições climáticas desfavoráveis (CRUZ et al., 2010), induzindo que a interação planta-microorganismos seja mais acentuada, para suprir as carências hídricas e nutricionais das plantas no referido período, o que justifica o uso de novas tecnologias a exemplo da co-inoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* para maior estímulo à produção de fitormônios e fixação biológica de N, que em conjunto com outros fatores provocados pelas bactérias, atuam reduzindo os efeitos negativos que o estresse pode gerar no crescimento e desenvolvimento das plantas (ZAIED et al., 2003; POTTERS et al., 2007).

Isto posto, o presente trabalho teve por objetivo estudar o efeito da inoculação e co-inoculação, em diferentes doses e modos de aplicação, associada à adubação nitrogenada reduzida, nos parâmetros fisiológicos e de produtividade da cultura do milho safrinha 2017.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi instalado em condições de campo, em 09/02/2017 em área experimental pertencente ao Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogina, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA, no município de Colina, SP, à 20°43' de latitude sul, 48° 34' de longitude oeste e altitude de 568 m. O histórico da área constou da cultura da soja em 2010/11, amendoim em 2011/12, pousio nos anos agrícolas 2013/14, 2014/15 e 2015/16.

O clima da região de Colina pode ser classificado como Cwa, ou seja, tropical de altitude com inverno seco, temperatura do mês mais quente maior que 22° C e temperatura do mês mais frio entre -3° e 18°C (KÖPPEN, 2001).

Foram coletados os dados locais de precipitação acumulada, temperatura máxima e mínima mensal, referente ao período de duração do experimento em campo, discriminados Tabela 1.

Tabela 1. Temperatura máxima absoluta (Tmax-ab), temperatura mínima (Tmin-ab), média das temperaturas máximas (mTmax), média das temperaturas mínimas (mTmin), temperatura média (Tm), evapotranspiração potencial (Ept), precipitação acumulada (Pp-a), precipitação mensal acumulada (Pp-m) e dias com precipitação no mês (DPp), em Colina, SP, no período de 27/11/2017 a 01/04/2018.

| Período | Tmax-ab | Tmin-ab | mTmax | mTmi | Tm | Ept | Pp-a | Pp-m | DPp |
|---------------|---------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| | °C | | | | | | mm | | |
| 09/02 a 27/02 | 33,6 | 18,13 | 32,25 | 19,13 | 25,66 | 13,5 | 6,78 | 4,00 | 2 |
| 01/03 a 29/03 | 32,9 | 18,31 | 31,98 | 18,95 | 25,46 | 14,25 | 19,47 | 128,3 | 3 |
| 30/03 a 30/04 | 31,4 | 15,7 | 30,14 | 16,84 | 23,47 | 11,22 | 7,47 | 0,3 | 1 |
| 01/05 a 28/05 | 29,5 | 13,9 | 28,39 | 15,0 | 21,68 | 10,75 | 18,91 | 3,9 | 3 |
| 29/05 a 25/06 | 28,9 | 7,53 | 26,71 | 10,79 | 18,78 | 8,75 | 0,29 | 1,3 | 1 |

Fonte: CIIAGRO (2018).

Os tratamentos testados, constam descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Tratamentos testados no experimento de inoculação e co-inoculação em milho safrinha, Colina, SP, 2017.

| Tratamento | Característica dos tratamentos/dose | Modo de aplicação - Inoculantes |
|------------|--|---|
| 1 | Testemunha absoluta (sem N e sem Inoculante) | - |
| 2 | 55 kg ha ⁻¹ de N | - |
| 3 | 110 kg ha ⁻¹ de N | - |
| 4 | 55 kg ha ⁻¹ de N + Inoculação com Masterfix L Gramíneas (0,1 L ha ⁻¹) | Tratamento de sementes |
| 5 | 55 kg ha ⁻¹ de N + Co-inoculação com Masterfix L Gramíneas (0,05 L ha ⁻¹) + Masterfix L Soja (0,05 L ha ⁻¹) | Tratamento de sementes |
| 6 | 55 kg ha ⁻¹ de N + Co-inoculação com Masterfix L Gramíneas (0,1 L ha ⁻¹) + Masterfix L Soja (0,1 L ha ⁻¹) | Tratamento de sementes |
| 7 | 55 kg ha ⁻¹ de N + Co-inoculação com Masterfix L Gramíneas (0,2 L ha ⁻¹) + Masterfix L Soja (0,2 L ha ⁻¹) | V ₃ /V ₄ ⁽¹⁾ |
| 8 | 55 kg ha ⁻¹ de N + Co-inoculação com Masterfix L Gramíneas (0,3 L ha ⁻¹) + Masterfix L Soja (0,3 L ha ⁻¹) | V ₃ /V ₄ |

⁽¹⁾ Pulverização sobre o solo entre os estádios de desenvolvimento V3 e V4.

A descrição dos inoculantes utilizados nesse experimento segue abaixo:

- Masterfix[®] L Gramíneas: inoculante líquido para milho e trigo produzido pela Stoller do Brasil Ltda, tendo como garantia a bactéria *Azospirillum brasilense* (cepas AbV5 e AbV6), na concentração de 1 x 10⁷ UFC mL⁻¹;

- Masterfix[®] L Soja: inoculante líquido para soja, produzido pela Stoller do Brasil Ltda, tendo como garantia as bactérias *Bradyrhizobium elkanni* (cepa Semia 5019) e *Bradyrhizobium japonicum* (cepa Semia 5079), na concentração de 5 x 10⁹ UFC mL⁻¹.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com quatro repetições, totalizando 32 parcelas experimentais. Cada parcela foi composta por seis linhas de seis metros de comprimento (com 28,8 m²), sendo a parcela útil as três linhas centrais. O espaçamento entrelinhas foi de 0,8 m.

A adubação de semeadura consistiu da aplicação da fórmula de adubo N-P-K 8-28-16, na dose de 250 kg ha⁻¹. Para a adubação de cobertura realizada em 09/03/2017, respectivamente aos 30 dias após a semeadura, foram aplicados a fonte ureia (45% de N solúvel), sendo as respectivas doses calculadas, de acordo com os resultados do laudo de análise química e física do solo e com base nas doses indicadas nos diferentes tratamentos supracitados. Testemunhas foram incluídas no ensaio, envolvendo ausência de inoculação; adubação nitrogenada usualmente recomendada ou metade da dose de N. Para a testemunha absoluta a adubação foi realizada manualmente com as fontes: superfosfato triplo e cloreto de potássio.

Antes da instalação do experimento foram coletadas amostras de solo da área experimental para posterior análise química e física, além da contagem de bactérias *Bradyrhizobium* e bactérias diazotróficas associativas do solo antes da semeadura. A contagem das bactérias foi realizada no Laboratório de Microbiologia Agrícola da FCAV/UNESP, câmpus de Jaboticabal, SP de acordo com as recomendações de Döbereiner, Baldani e Baldani (1995) e Kuykendall (2005).

O solo da área experimental de Colina, SP é um Latossolo Vermelho distrófico de textura média. De acordo com o laudo de análise química e física do solo, obtiveram-se os seguintes resultados: pH (CaCl₂) = 5,66; M.O. = 21,35 g dm⁻³; CO = 12 g dm⁻³; P = 6,34 mg dm⁻³; K = 5,56 mmol_c dm⁻³; Ca = 18 mmol_c dm⁻³; Mg = 14,41 mmol_c dm⁻³; H + Al = 20,45 mmol_c dm⁻³; SB = 37,97 mmol_c dm⁻³; CTC = 58,42

$\text{mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ e $V = 64,99\%$, $S = 4,90 \text{ mg dm}^{-3}$, $Zn = 0,94 \text{ mg dm}^{-3}$, $B = 0,14 \text{ mg dm}^{-3}$, $Mn = 13,03 \text{ mg dm}^{-3}$, $Cu = 0,41 \text{ mg dm}^{-3}$ e $Fe = 22,25 \text{ mg dm}^{-3}$; Areia Total = 804 g kg de solo; Argila = 150 g kg de solo e Silte = 45 g kg de solo. Em porcentagem: Areia Total = 80,40 % (Areia grossa = 55,50 % + Areia fina = 24,90%); Argila = 15,00%; Silte = 4,50.

O preparo do solo foi de maneira convencional. Posteriormente, a área foi sulcada e adubada com semeadora-adubadora, com exceção do T1 = testemunha absoluta em que a adubação foi realizada manualmente.

Optou-se pelo híbrido DKB 390 VT PRO2. A semeadura foi realizada manualmente por matraca. Foi realizado o desbaste no dia 27/02/2017, objetivando uma população de 64000 plantas ha^{-1} .

Assim, no laboratório, antes da semeadura foram realizados os procedimentos de inoculação das sementes referentes aos tratamentos T4, T5 e T6. Já, nos tratamentos T7 e T8 cuja co-inoculação foi realizada entre V3/V4, adotaram-se os seguintes procedimentos: os inoculantes foram aplicados por meio de pulverizador com costal 20 L, sendo o bico dirigido para o solo, próximo ao pé da planta. O volume de calda utilizado para a aplicação em sulco de semeadura foi de 100 L ha^{-1} .

Todas as sementes já vieram tratadas, sendo os inoculantes aplicados por último, no dia da semeadura. Além disso, foram adotados alguns cuidados para garantir uma maior eficiência dos inoculantes, como inoculação das sementes realizada à sombra e distribuição uniforme dos inoculantes em todas as sementes. Assim, não houve contato direto dos inoculantes com os fungicidas utilizados no tratamento de sementes.

Todas as técnicas de cultivo, como escolha do híbrido, época de semeadura, população de plantas, controle de plantas daninhas, insetos e doenças seguiram o manual da cultura do milho (FORNASIERI FILHO, 2007).

Foi realizada a avaliação do estande inicial 11 dias após a semeadura e posteriormente efetuado desbaste (27/02/2017) para ajustar a população em cerca de 64000 plantas ha^{-1} . Para isto, contou-se o número de plântulas presentes nas 6 linhas de cada parcela experimental.

No início do florescimento (04/04/2017), foram avaliadas duas plantas por parcela experimental em relação à altura média de plantas (AP), medida do nível do solo até o ponto de inserção da última folha, em metros e altura média de inserção da espiga (AE): medida do nível do solo até a inserção da primeira espiga, em metros. O Florescimento feminino (FF) se refere ao número de dias do plantio até a emissão do estilo-estigmas em 50% das plantas das parcelas. Simultaneamente a essas avaliações foram coletadas 2 plantas por parcela, para posterior pesagem inicial, trituração, pesagem do material triturado para acomodação em estufa de circulação forçada de ar a 65° C/150 h (pré-secagem) e 105° C/16 h (secagem definitiva) e pesagem do material retirado da estufa para determinação da massa seca da parte aérea (MSPA). Os cálculos foram obtidos dividindo-se massa seca pelo número de plantas avaliadas e os resultados expressos em g planta^{-1} .

Alguns dias antes da colheita foi realizada a avaliação de altura média de inserção da primeira espiga (AE) e altura média de plantas (AP) em metros, obtido em quatro repetições por parcela. Concomitantemente, com a colheita das espigas das três linhas centrais, foram coletadas 3 espigas por parcela experimental para que fosse feita a avaliação dos componentes de produção que, posteriormente, a partir da contagem de números de grãos por fileira da espiga (GF), número de fileira de grãos por espiga (FE), largura da espiga (LE) em cm, comprimento da espiga (CE) em cm, massa de grãos por espiga (MGE) g e massa de mil grãos (MMG). A produtividade de grãos (PG) em kg ha^{-1} , foi estimada a partir da conversão, para hectare, da produção obtida na parcela útil (3 linhas centrais). A colheita foi realizada quando os grãos atingiram umidade em torno de 23,9%. Posterior à debulha dos grãos, a umidade foi corrigida para 13% para a determinação da massa obtida nas parcelas.

O estande final foi avaliado aos 133 dias, simultaneamente, por ocasião da colheita das parcelas experimentais que foi realizada no dia 22/06/2017, nas três linhas centrais onde foram colhidas as espigas para posterior estimativa da produtividade de grãos. Os resultados foram expressos em número de plantas por metro linear.

Foram determinados os teores de nitrogênio na massa seca da parte aérea e grãos (g kg^{-1}), utilizando-se o método de Kjeldahl, conforme recomendação da Association of Official Analytical Chemists (1975).

Realizou-se os testes de pressuposições estatísticas para testar a normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias e em seguida procedeu-se a análise de variância individual sem necessidade de transformação dos dados. Em seguida foi efetuado o teste de Duncan 5%. Utilizou-se o programa estatístico AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO JUNIOR, 2015).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 estão descritos os resultados de contagem de bactérias presentes no solo da área experimental antes de sua instalação.

Tabela 3. Resultados da contagem de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e bactérias diazotróficas de solo de área experimental, Colina, SP. Ano agrícola 2016/17.

| Umidade do solo % | Bactérias Totais | Bactérias <i>Bradyrhizobium</i> UFC ⁽¹⁾ g ⁻¹ solo seco | Bactérias Diazotróficas |
|----------------------|------------------------|---|-------------------------|
| 6,47 | 5,85 x 10 ⁶ | 1,75 x 10 ⁷ | 7,94 x 10 ⁶ |

⁽¹⁾ Unidade formadora de colônias

O solo da área experimental apresentava elevado número de bactérias nodulantes de soja e diazotróficas, estimado, respectivamente em $1,75 \times 10^7$ e $7,94 \times 10^6$ unidades formadoras de colônias por grama de solo. Considerando o *Azospirillum spp*, segundo Baldani et al. (1997), o mesmo se encaixa no grupo dos diazotróficos endofíticos facultativos, uma vez que colonizam tanto o interior das raízes quanto a rizosfera de plantas e ocorrem frequentemente em solos de clima tropical e subtropical. A exemplo disso, Dobereiner e Day (1976) consideravam que de 30 a 90% das amostras de solo coletadas em todo o mundo continham *A. brasilense* ou *A. lipoferum*, semelhante aos resultados da amostra de solo do presente trabalho. Por sua vez, a pré-existência destes microorganismos competidores no solo com as estirpes contidas nos inoculantes podem influenciar na interação entre a planta de milho e as bactérias e afetar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio (QUADROS et al., 2014). Assim, a existência dessas bactérias naturalmente na maioria dos solos com ampla diversidade genética (ARDAKANI et al., 2011), justifica a utilização de estirpes eficientes na FBN e na produção de hormônios de crescimento e desenvolvimento, capazes de competir com as bactérias nativas bem como, utilizar milhos responsivos ou aptos a essa associação (BASI, 2013), explicando os tratamentos testados no trabalho que envolveram a co-inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*.

Na Tabela 4, encontram-se os resultados obtidos para estande inicial e final avaliado respectivamente aos 11 e 133 dias após a semeadura, sendo possível inferir que não ocorreram diferenças significativas ($p < 0,01$) para esta variável.

Tabela 4. Estande inicial e final (plantas m⁻¹) em resposta aos diferentes tratamentos testados envolvendo inoculação e co-inoculação em diferentes modos de aplicação e doses em milho safrinha. Colina, SP. 2017.

| Tratamentos | Estande inicial ¹ | Estande final ² |
|-----------------|------------------------------|----------------------------|
| | 11 DAS | 133 DAS |
| T1 | 5,64 a | 4,78 ab |
| T2 | 5,31 ab | 4,77 ab |
| T3 | 5,39 ab | 4,86 a |
| T4 | 5,30 ab | 4,89 a |
| T5 | 5,14 b | 4,86 a |
| T6 | 5,36 ab | 4,78 ab |
| T7 | 5,21 ab | 4,88 a |
| T8 | 5,24 ab | 4,67 b |
| F (tratamentos) | 1,20 ns | 1,75 ns |
| CV (%) | 5,21 | 2,40 |
| Médias | 5,32 | 4,81 |

Média de quatro repetições seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%. T1 = Testemunha absoluta (sem N e sem inoculação); T2= 55 kg ha⁻¹ de N; T3 = 110 kg ha⁻¹ de N; T4 = 55 kg ha⁻¹ de N + Inoculação com Masterfix[®] L Gramíneas (0,1 L ha⁻¹) nas sementes; T5 = 55 kg ha⁻¹ de N + Co-inoculação com 0,05 L ha⁻¹ de cada um dos inoculantes Masterfix[®] L Gramíneas + Masterfix[®] L Soja nas sementes; T6 = 55 kg ha⁻¹ de N + Co-inoculação com 0,1 L ha⁻¹ de cada um dos inoculantes nas sementes; T7 = 55 kg ha⁻¹ de N + Co-inoculação com 0,2 L ha⁻¹ de cada um dos inoculantes em pulverização V3/V4; T8 = 55 kg ha⁻¹ de N + Co-inoculação com 0,3 L ha⁻¹ de cada um dos inoculantes em pulverização V3/V4; sendo Masterfix L Soja e MAsterfix L Gramíneas= inoculantes comerciais da Empresa Stoller do Brasil contendo as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, respectivamente, DAS = dias após a semeadura. ^{1,2} Médias, respectivamente, de seis e três linhas de seis metros lineares.

Na Tabela 5, encontra-se os resultados médios obtidos nos parâmetros avaliados no estágio fenológico R1. Pelo teste F foram detectadas significâncias estatísticas para MSPA e TNPA.

Em relação aos parâmetros APF e AEF não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos testados; discordando dos resultados obtidos por Barassi et al. (2008) que verificaram que uma resposta fisiológica ocasionada pela inoculação com *Azospirillum* seria incremento em altura de plantas (Tabela 5).

Tabela 5. Altura de planta (APF), altura de espiga (AEF), massa seca da parte aérea (MSPA) e teor de nitrogênio na parte aérea (TNPA), avaliados no florescimento das plantas em resposta aos diferentes tratamentos testados envolvendo inoculação e co-inoculação em diferentes modos de aplicação e doses em milho safrinha. Colina, SP. 2017.

| Tratamentos | APF metros | AEF metros | MSPA g planta ⁻¹ | TNPA g kg ⁻¹ |
|-------------|---------------|---------------|--------------------------------|----------------------------|
| T1 | 1,95 a | 1,192 a | 82,94 c | 16,98 c |
| T2 | 1,95 a | 1,110 b | 89,62 bc | 19,50 ab |
| T3 | 2,02 a | 1,117 ab | 91,85 ab | 18,80 b |
| T4 | 2,02 a | 1,16 ab | 98,38 a | 20,87 a |
| T5 | 1,98 a | 1,12 ab | 88,91 bc | 19,32 ab |
| T6 | 2,04 a | 1,185 ab | 92,57 ab | 19,94 ab |
| T7 | 1,99 a | 1,185 ab | 88,24 bc | 21,21 a |
| T8 | 2,00a | 1,177 ab | 93,31 ab | 19,71 ab |
| F | 1,16 ns | 2,13ns | 3,62* | 4,72** |
| CV (%) | 3,02 | 4,06 | 5,20 | 6,15 |
| Média | 1,99 | 1,16 | 90,73 | 19,54 |

Média de quatro repetições seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%. T1 = Testemunha absoluta (sem N e sem inoculação); T2= 55 kg ha⁻¹ de N; T3 = 110 kg ha⁻¹ de N; T4 = 55 kg ha⁻¹ de N + Inoculação com Masterfix[®] L Gramíneas (0,1 L ha⁻¹) nas sementes; T5 = 55 kg ha⁻¹ de N + Co-inoculação com 0,05 L ha⁻¹ de cada um dos inoculantes Masterfix[®] L Gramíneas + Masterfix[®] L Soja nas sementes; T6 = 55 kg ha⁻¹ de N + Co-inoculação com 0,1 L ha⁻¹ de cada um dos inoculantes nas sementes; T7 = 55 kg ha⁻¹ de N + Co-inoculação com 0,2 L ha⁻¹ de cada um dos inoculantes em pulverização V3/V4; T8 = 55 kg ha⁻¹ de N + Co-inoculação com 0,3 L ha⁻¹ de cada um dos inoculantes em pulverização V3/V4; sendo Masterfix L Soja e MAssterfix L Gramíneas= inoculantes comerciais da Empresa Stoller do Brasil contendo as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, respectivamente.

Quanto a MSPA, nota-se que a inoculação a base de *Azospirillum* associada à dose reduzida de 55 kg ha⁻¹ de N no tratamento de sementes (T4) destacou-se estatisticamente dos demais tratamentos testados, e foi equivalente à adubação nitrogenada na dose recomendada de 110 kg ha⁻¹ de N (T3), e co-inoculação nas maiores doses tanto no tratamento de sementes (T6) como via pulverização em V3/V4 (T8). Valores intermediários foram obtidos para os tratamentos com metade da dose de adubação nitrogenada sem inoculação (T2) e menores doses de inoculantes para a co-inoculação associadas a doses reduzidas de fertilização nitrogenada, ou seja, nos tratamentos (T5 e T7). Já, resultados inferiores quanto à biomassa seca da parte aérea estiveram associadas a testemunha absoluta (T1), fato já esperado.

Quanto ao TNPA (Tabela 5), novamente a inoculação com *Azospirillum* (T4) e o uso da co-inoculação na dose de 0,2 L ha⁻¹ no tratamento de sementes (T7), ambos associados à adubação nitrogenada reduzida foram superiores estatisticamente aos demais, apesar de não diferirem estatisticamente dos tratamentos T2, T5, T6 e T8. Já os piores resultados quanto ao acúmulo de nitrogênio na parte aérea foram notados em T3 e T1, corroborando com os resultados obtidos por Barassi et al. (2008) que mencionaram em suas pesquisas que a inoculação com *Azospirillum* promove melhoria em parâmetros fotossintéticos das folhas incluindo o teor de clorofila e condutância estomática, maior teor de prolina na parte aérea e raízes, melhoria no potencial hídrico, incremento no teor de água do apoplasto, maior elasticidade da parede celular e maior biomassa. Deste modo, a importância do estudo do efeito da bactéria *Azospirillum* spp. no desenvolvimento do milho e outras gramíneas é interessante não apenas quanto ao rendimento das culturas, mas também, com relação às causas fisiológicas que, possivelmente, incrementam a produtividade (BÁRBARO; BRANCALIÃO; TICELLI, 2008).

Nas Tabelas 6 e 7 constam os resultados obtidos na avaliação de alguns caracteres de interesse agrônomo, bem como, dos componentes da produção de grãos.

Na análise de variância, pode-se observar diferenças significativas ($p \leq 0,01$) para TNG; ($p \leq 0,05$) para CE, DE, FE, GE, PGE, PMG e PG, com exceção de APM, AEM que semelhante ao ocorrido avaliações no florescimento também não apresentaram significância estatística (Tabelas 6 e 7).

Quanto ao nitrogênio acumulado nos grãos, o tratamento T4 destacou-se apresentando maior TNG em relação aos demais tratamentos testados, inclusive aos que fizeram uso da prática da co-inoculação (Tabela 6). Por outro lado, o tratamento (T5) que corresponde a utilização dos inoculantes em doses menores ($0,05 \text{ L ha}^{-1}$) via tratamento de sementes apresentou menor acúmulo de nitrogênio nos grãos, sendo que os demais tratamentos apresentaram-se como intermediários e equivalentes estatisticamente entre si.

Tabela 6. Altura média de planta (APM), altura média da espiga (AEM), teor de nitrogênio nos grãos (TNG) avaliados por ocasião da maturação, em resposta aos diferentes tratamentos testados envolvendo inoculação e co-inoculação em diferentes modos de aplicação e doses em milho safrinha. Colina, SP. 2017.

| Tratamentos | APM m | AEM m | TNG g kg ⁻¹ |
|----------------|----------|----------|---------------------------|
| T1 | 2,15 a | 1,18 b | 17,89 bc |
| T2 | 2,24 a | 1,26 ab | 17,89 bc |
| T3 | 2,21 a | 1,41 a | 18,90 b |
| T4 | 2,24 a | 1,19 b | 20,69 a |
| T5 | 2,26 a | 1,26 ab | 16,85 c |
| T6 | 2,25 a | 1,24 ab | 18,03 bc |
| T7 | 2,35 a | 1,21 b | 18,13 bc |
| T8 | 2,23 a | 1,20 b | 17,92 bc |
| F (tratamento) | 0,71ns | 1,56ns | 4,85** |
| CV (%) | 5,93 | 9,72 | 5,56 |
| Média | 2,24 | 1,24 | 18,28 |

Média de quatro repetições seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%. T1 = Testemunha absoluta (sem N e sem inoculação); T2 = 55 kg ha^{-1} de N; T3 = 110 kg ha^{-1} de N; T4 = 55 kg ha^{-1} de N + Inoculação com Masterfix[®] L Gramíneas ($0,1 \text{ L ha}^{-1}$) nas sementes; T5 = 55 kg ha^{-1} de N + Co-inoculação com $0,05 \text{ L ha}^{-1}$ de cada um dos inoculantes Masterfix[®] L Gramíneas + Masterfix[®] L Soja nas sementes; T6 = 55 kg ha^{-1} de N + Co-inoculação com $0,1 \text{ L ha}^{-1}$ de cada um dos inoculantes nas sementes; T7 = 55 kg ha^{-1} de N + Co-inoculação com $0,2 \text{ L ha}^{-1}$ de cada um dos inoculantes em pulverização V3/V4; T8 = 55 kg ha^{-1} de N + Co-inoculação com $0,3 \text{ L ha}^{-1}$ de cada um dos inoculantes em pulverização V3/V4; sendo Masterfix L Soja e MAsterfix L Gramíneas= inoculantes comerciais da Empresa Stoller do Brasil contendo as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, respectivamente.

Considerando a produtividade de grãos, de modo geral constata-se que acréscimos expressivos foram obtidos quando se fez uso da co-inoculação na maior dose de cada inoculante ($0,3 \text{ L ha}^{-1}$) via pulverização sobre o solo em V3/V4 associada à adubação nitrogenada reduzida (T8) em relação aos tratamentos testemunha absoluta e adubação nitrogenada na metade da dose usualmente recomendada para a cultura, porém não diferiu estatisticamente do tratamento com adubação nitrogenada dose cheia (T3), bem como, aos que envolveram a prática de co-inoculação independente da forma de aplicação e doses da formulação (T5, T6 e T7), e também da inoculação com apenas *Azospirillum* via sementes (T4).

Tabela 7. Comprimento de espiga (CE), diâmetro de espiga (DE), número de grãos por fileira (GF), número de fileiras de grãos por espiga (FE), massa de grãos por espiga (MGE) e massa de mil grãos (MMG) e produtividade de grãos (PG) em resposta aos diferentes tratamentos testados envolvendo inoculação e co-inoculação em diferentes modos de aplicação e doses em milho safrinha. Colina, SP, 2017.

| Tratamentos | CE ^{1,2} cm | DE ^{1,2} cm | GF ^{1,2} | FE ^{1,2} | MGE ^{1,2} gramas | MMG ^{1,3} gramas | PG ^{1,3} kg ha ⁻¹ |
|-------------|-------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|------------------------------|--|
| T1 | 17,28bc | 14,57 c | 33,29d | 17,00cde | 90,41bc | 180,07e | 3941 c |
| T2 | 18,13a | 16,05 a | 34,59 bc | 17,67abc | 98,16 b | 200,37cd | 4473bc |
| T3 | 16,67c | 14,72 c | 34,46bc | 17,25bcd | 81,32cde | 190,19de | 4817 ab |
| T4 | 17,27bc | 15,60ab | 34,01cd | 18,00a | 121,51a | 190,08de | 5161 ab |
| T5 | 17,15bc | 15,18bc | 36,73 a | 17,75ab | 79,84de | 210,75ab | 4626abc |
| T6 | 17,73ab | 15,54ab | 33,58cd | 16,50e | 77,96e | 190,23de | 4603abc |
| T7 | 17,58ab | 15,16bc | 35,22 b | 16,75de | 96,59b | 210,29bc | 4917 ab |
| T8 | 17,64ab | 15,99 a | 33,21d | 17,50 abc | 88,26bcd | 220,64a | 5294 a |
| F | 3,68** | 7,44** | 11,22** | 5,28** | 19,46** | 13,22** | 3,60* |
| CV (%) | 2,64 | 2,60 | 2,03 | 2,62** | 7,00 | 4,29 | 9,46 |
| Média | 17,43 | 15,35 | 34,38 | 17,30 | 91,76 | 200 | 4729,28 |

Média de quatro repetições seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%. T1 = Testemunha absoluta (sem N e sem inoculação); T2= 55 kg ha⁻¹ de N; T3 = 110 kg ha⁻¹ de N; T4 = 55 kg ha⁻¹ de N + Inoculação com Masterfix[®] L Gramíneas (0,1 L ha⁻¹) nas sementes; T5 = 55 kg ha⁻¹ de N + Co-inoculação com 0,05 L ha⁻¹ de cada um dos inoculantes Masterfix[®] L Gramíneas + Masterfix[®] L Soja nas sementes; T6 = 55 kg ha⁻¹ de N + Co-inoculação com 0,1 L ha⁻¹ de cada um dos inoculantes nas sementes; T7 = 55 kg ha⁻¹ de N + Co-inoculação com 0,2 L ha⁻¹ de cada um dos inoculantes em pulverização V3/V4; T8 = 55 kg ha⁻¹ de N + Co-inoculação com 0,3 L ha⁻¹ de cada um dos inoculantes em pulverização V3/V4; sendo Masterfix L Soja e MAsterfix L Gramíneas= inoculantes comerciais da Empresa Stoller do Brasil contendo as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, respectivamente; ¹: três linhas de seis metros lineares; ²: média de 3 espigas por repetição; ³: valores corrigidos para 13% de umidade.

Ainda nesse contexto, verificou-se média geral dos tratamentos de 4729,28 kg ha⁻¹. Desta forma, nota-se tratamentos com variação da ordem de 11,95 % a mais e 16,67% a menos em relação à essa média geral do ensaio (Tabela 7). Este resultado demonstra bom desempenho da cultura do milho na safrinha 2017 em Colina, SP, pois de acordo com o décimo levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento Agrícola - CONAB, para a 2ª safra (safrinha) 2016/17, foi estimada uma produtividade nacional média de 5115 kg ha⁻¹ e para o Estado de São Paulo, a estimativa foi de 5100 kg ha⁻¹ (CONAB, 2017). Assim, com as práticas de co-inoculação e inoculação com inoculantes da empresa, associadas às doses reduzidas de fertilizante nitrogenado via pulverização sobre o solo em V3/V4 (T8) e no tratamento de sementes (T4) foram responsáveis pela elevação da produtividade de 5294,28 e 5161,45 kg ha⁻¹, cujos incrementos médios em relação à média foram de 565 e 432,17 kg ha⁻¹, respectivamente; corroborando com os relatos de pesquisa de que a associação de bactérias do gênero *Azospirillum* promovem maior ramificação das raízes e formação de pelos radiculares que contribuem para uma maior absorção de nutrientes, culminando com elevação da produtividade da cultura (BASHAN; DE-BASHAN, 2010; LANA et al., 2012; REVOLTI, 2014; CAPRIO, 2017).

CONCLUSÃO

A co-inoculação com inoculantes a base de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na dose de 0,3 L ha⁻¹ via pulverização sobre o solo em V3/V4 associada à adubação nitrogenada reduzida foi tecnicamente viável em milho safrinha, em Colina, SP, propiciando maior produtividade.

A inoculação com Masterfix® L Gramíneas no tratamento de sementes associada à adubação nitrogenada reduzida favoreceu o incremento nos caracteres MSPA, TNPA, TNG, FE, PGE e PG, em milho safrinha.

REFERÊNCIAS

- A.O.A.C - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS . **Official methods of analysis**. Washington, D.C.: AOAC, 1975. 1054 p.
- ARDAKANI, M. R. et al. 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**, v. 17, , n. 2, p. 181-192, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12298-011-0065-7>
- BALDANI, J. I. et al. Recent advances in BFN with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5-6, p. 911-922, 1997. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00218-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00218-0)
- BARASSI, C. A. et al. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. ***Azospirillum* sp.; cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Asociacion Argentina de Microbiologia, p. 49-59, 2008.
- BARBARO, I. M.; BRANCALIÃO, S. R.; TICELLI, M. **É possível a fixação biológica de nitrogênio em milho**. INFOBIBOS - Informações Tecnológicas, 2008. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2008_2/fixacao/index.htm
- BARBOSA, J. C., MALDONADO JUNIOR, W. 2015. **AgroEstat** - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agrônomicos. Jaboticabal: UNESP.
- BASHAN Y.; DE BASHAN, L. E. How the plant growth promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment. **Advances in Agronomy**, v. 108, p. 77-136, 2010. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)08002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)08002-8)
- BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. 2013. 50 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava.
- CANTARELLA, H. **Calagem e adubação do milho**. In: BÜL, L. T.; CANTARELLA, H. (Eds). **Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: POTAFOS, 1993. p. 147-198.
- CAPRIO, C. H. **Interação de variedades de milho sob inoculação com *Azospirillum brasilense* em diferentes épocas de semeadura**. 2017. 45 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- CIIAGRO - CENTRO INTEGRADO DE INFORMAÇÕES AGROMETEOROLÓGICAS. **Rede meteorológica automática - Dados horários: Colina, SP**. São Paulo, 2018. Disponível em: <http://www.ciiagro.org.br/ema/index.php?id=19#>
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Décimo Levantamento da safra de grãos 2016/2017**. Disponível em: https://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_07_12_11_17_01_boletim_graos_julho_2017.pdf
- CRUZ, J. C. et al. **Cultivo do Milho: Cultivares**. Sistemas de Produção, 6. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27051/1/Cultivares.pdf>

- DARTORA, J. et al. Adubação nitrogenada associada a 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. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662013001000001>
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília: Embrapa SPI. 1995. 60 p.
- DÖBEREINER, J.; DAY, J. M. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: NEWTON, W. E.; NYMAN, C. T. (Eds). **Nitrogen Fixation**. Pullman: Washington State University, v. 2. p. 518-538, 1976.
- FORNASIERI FILHO, D. **Manual da Cultura do Milho**. Jaboticabal: Funep, 576 p. 2007.
- HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 36 p. 2011.
- JORDÃO, L. T.; MUNIZ, A. S. **Fixação Biológica de Nitrogênio No Milho 2ª Safra**. Bactérias do gênero *Azospirillum* disponibilizam nitrogênio no solo e incrementam a produtividade do milho 2ª safra. Portal ciência do solo. 2014. Disponível em: <http://www.cienciasosolo.com.br>
- KÖPPEN, W. Climatologia. In: PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R.; SENTELHAS, P. C. (Eds), **Agrometeorologia: fundamentos e aplicações práticas**. Guaíba: Agropecuária. 478 p. 2001.
- KUYKENDALL, L. D. Order VI. Rhizobiales ord. nov. In: BRENNER, D. J. et al. (Eds). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 2. Ed. New York: Springer, v. 2, part C. 324 p. 2005.
- LANA, M. C. et al. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2012000300016>
- LIBÓRIO, P. H. da S. et al. Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada á adubação nitrogenada reduzida em híbridos de milho. **Nucleus**, v. 13, n. 2, p. 241-253, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3738/1982.2278.1559>
- MAJEROWICZ, N. et al. Estudo da eficiência de uso do nitrogênio em variedades locais em melhoradas de milho. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 2, p. 129-136, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042002000200002>
- NOVOA, R.; LOOMIS, R. S. Nitrogen and Plant Production. **Plant and Soil**, v. 58, n. 1-3, p. 177-204, 1981. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02180053>
- OKUMURA, R. S. et al. Influence of different nitrogen levels on growth and production parameters in maize plants. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 9, n. 3-4, p. 510-514, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/255746707_Influence_of_different_nitrogen_levels_on_growth_and_production_parameters_in_maize_plants
- PANDOLFO, C. M. et al. Desempenho de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a doses de nitrogênio em cobertura. **Revista Agropecuária Catarinense**, v. 27, n. 3, p. 94-99, nov. 2014/fev. 2015. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/114686/1/Desempenho-de-milho-inoculado-com-Azospirillum-brasiliense-associado-a-doses-de-nitrogenio-em-cobertura.pdf>
- PEREIRA, L. M. **Qualidade de sementes, teor de nitrogênio e expressão gênica em genótipos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense***. 2014. 56 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

PEREIRA, L. M. et al. Seed quality, chlorophyll content index and leaf nitrogen levels in maize inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, p. 630-637, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20150047>

POTTERS, G. et al. Stress induced morphogenic responses: growing out of trouble. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 3, p. 98-105, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.01.004>

QUADROS, P. D. et al. O. Desempenho agronômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2014000200008>

REVOLTI, L. T. M. **Interação genótipo vs formas de inoculação com *Azospirillum brasilense***. 2014. 46 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 37, n. 5, p. 1016-1024, 1979. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC243341/>

ZAIED, K. A. et al. Yield and nitrogen assimilation of winterwheat inoculated with new recombinant inoculants of rihzobacteria. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 4, p. 344-358, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3923/pjbs.2003.344.358>

