



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL – UFFS
CAMPUS CERRO LARGO
CURSO DE AGRONOMIA

JACÓ SCHNEIDER TONIN

**INFLUÊNCIA DA INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* EM DIFERENTES
TEMPERATURAS NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO (*Zea mays*)**

CERRO LARGO - RS

2019

JACÓ SCHNEIDER TONIN

**INFLUÊNCIA DA INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* EM DIFERENTES
TEMPERATURAS NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO (*Zea mays*)**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção de grau de
Bacharel em Agronomia da Universidade Federal da
Fronteira Sul.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Machado de Mello.

CERRO LARGO – RS

2019

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Tonin, Jacó Schneider

INFLUÊNCIA DA INOCULAÇÃO DE AZOSPIRILLUM brasilense
EM DIFERENTES TEMPERATURAS NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
MILHO (Zea mays) / Jacó Schneider Tonin. -- 2019.
38 f.:il.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Machado de Mello..
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Agronomia, Cerro Largo, RS , 2019.

1. Milho . 2. Fixação Biológica. 3. Promotoras de
Crescimento . 4. Inoculação . 5. Nitrogênio. I. Mello.,
Prof. Dr. Anderson Machado de, orient. II. Universidade
Federal da Fronteira Sul. III. Título.

JACÓ SCHNEIDER TONIN

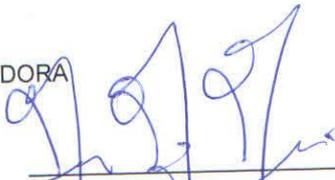
**INFLUÊNCIA DA INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* EM
DIFERENTES TEMPERATURAS NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
MILHO (*Zea mays*)**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul.

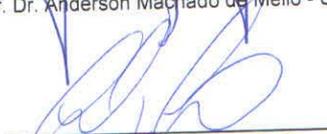
Orientador: Prof. Dr. Anderson Machado de Mello

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:
04/12/2019.

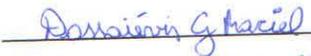
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Anderson Machado de Mello - UFFS



Prof. Dr. Daniel Joner Daroit – UFFS



Engenheiro Agrônomo Dassaiévis Gonzatto Maciel – C.P.R.A.M

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a deus por tudo e por sempre guiar e iluminar meu caminho, e também minha família que sempre está ao meu lado me apoiando e me incentivando.

Ao meu professor orientador Anderson Machado de Mello pela confiança, orientação e ensinamentos durante toda a graduação, trabalho de conclusão de curso e estágio.

A todos os professores da UFFS que contribuíram com seus ensinamentos para à minha formação profissional.

Agradeço aos colegas, amigos e a todas as pessoas que de alguma forma Contribuíram para a realização desse trabalho e de minha formação.

RESUMO

O milho (*Zea mays*) é uma das culturas de grande importância econômica, e de uma imensa demanda de utilização de insumos, principalmente a adubação nitrogenada, o que torna grande a necessidade de tornar uma cultura mais sustentável. Nesse âmbito, vêm se aumentando os estudos com a fixação biológica do nitrogênio na cultura do milho, através da inoculação da bactéria *Azospirillum brasiliense*, que, segundo pesquisadores, também atuam como promotoras de crescimento. Neste trabalho, analisou-se a eficiência da inoculação desta bactéria em diferentes temperaturas (20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C e testemunha, a qual não foi inoculada) antes do processo de germinação e crescimento de plântulas. Para a análise dos dados de emergência e desenvolvimento de plântulas, foi realizada a análise de variância e aplicou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Perante os resultados obtidos, observou-se que as diferentes temperaturas após a inoculação, não apresentaram diferenças significativas em nenhum dos parâmetros analisados, também não apresentando diferenças em relação à testemunha, a qual não foi inoculada.

Palavras-chaves: Milho, Fixação Biológica, Promotoras de Crescimento, Inoculação, Nitrogênio.

ABSTRACT

Corn (*Zea mays*), is one of the crops of great economic importance, and an immense demand for the use of inputs, especially nitrogen fertilization, which makes the need to make a crop more sustainable. In this context, studies have been increasing with biological nitrogen fixation by corn crop, through inoculation of the bacterium *Azospirillum brasiliense*, which, according to researchers, are also growth promoters. In this work, we analyzed the efficiency of inoculation of this bacterium at different temperatures (20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C and control) before the seedling germination and growth process. For the analysis of the emergence data and seedling development, variance analysis was performed and the Tukey test was applied at 5% probability. In view of the results obtained, he observed that the different temperatures after inoculation did not present significant differences in any of the parameters analyzed, also, also showing no differences in relation to the witness, which was not inoculated.

Keywords: Corn, Biological Fixation, Growth Promoters, Inoculation, Nitrogen.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Registro dos testes sendo colocados para o processo de germinação na BOD.	25
Figura 2: Registro das avaliações, parte aérea e raiz de plântulas de milho.	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tratamentos e condições avaliadas no experimento.....	24
Tabela 2: Porcentagem de germinação (%G), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CRAI) e massa seca da raiz (MSR), variando em função da inoculação em diferentes temperaturas.....	27

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

N – Nitrogênio

FBN – Fixação Biológica de Nitrogênio

NO₃ – Nitrato

NH₄ – Íon Amônio

CH₄N₂O – Ureia

NH₃ – Gás Amônia

H⁺ - Hidrogênio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1. A CULTURA DO MILHO	14
2.2. NITROGÊNIO.....	17
2.3. FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO	19
2.4. INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO COM <i>Azospirillum brasilense</i>	20
2.5. INOCULANTE <i>Azospirillum brasilense</i>	22
3. MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1. AVALIAÇÕES	25
3.2. ANÁLISE DOS DADOS.....	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5. CONCLUSÕES	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.), originário das Américas, é sem dúvida hoje um dos cereais mais importantes, sendo também uma das culturas mais antigas do mundo, além disso, pode ser encontrado em várias partes do globo também a diferentes altitudes (WORDELL FILHO, TAVARES ELIAS, 2012).

Várias regiões no Brasil apresentam um bom potencial para seu cultivo. Também inúmeras são as formas de utilização deste cereal, que vai da alimentação humana ao fornecimento a animais, e para fins industriais, além de que o milho é muito utilizado dentro do sistema de rotação de culturas. Com tudo, possui um grande destaque na agricultura nacional e na balança comercial do país (CRUZ et al., 2010).

De acordo com dados da Conab (2019), a área cultivada com milho na safra 18/19 foi de 16.824,6 milhões ha, sobressaindo à safra 17/18 que foi de 16.616,4. Vale destacar também o aumento da produtividade em kg/ha, que passou de 4.857 para 5.448 kg/ha, que corresponde a 12%.

Atualmente, o cenário para a cultura do milho aponta que haverá um aumento de seu consumo, em virtude do crescimento econômico e populacional de países como a China, o que reforça a tendência natural de crescimento e importância do milho no contexto global e doméstico (SOLOGUREN, 2015).

Produzir gradativamente mais alimentos aliado ao desenvolvimento sustentável e com menores custos, está sendo um grande desafio da agricultura contemporânea. Portanto, o aprimoramento das técnicas e manejo que contemplam cada campo da agronomia se tornam imprescindíveis.

Portanto, a semeadura da cultura bem feita, aliada com uma adubação equilibrada, conforme as interpretações da análise de solo, mais manejo adequado, com controle rígido de pragas e doenças em conjunto a novas tecnologias, estão entre os principais fatores que possam atender os objetivos desejados.

No quesito adubação, o milho está entre as culturas que mais exigem fertilizantes, principalmente os nitrogenados, onde a sua falta representa um fator limitante da produtividade (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2017).

Conseqüentemente, manejar corretamente a adubação nitrogenada pode se tornar um dos fatores responsáveis a se obter um bom aumento na produtividade do milho, principalmente quando temos um ano em condições de clima propício a cultura

(AMADO; MIELNICZUK; CAITA, 2002). Sabendo-se ainda que o nitrogênio é o nutriente responsável pela maior parte dos custos de produção do cereal.

O nitrogênio, em grande parte é encontrado no solo, proveniente de materiais orgânicos mortos, logo sua disponibilização depende da atividade biológica do solo e da sua taxa de mineralização (GALLO E BASSO, 2012).

Uma das principais maneiras para o fornecimento de nitrogênio suplementar a cultura, é por meio da adubação mineral, pois os solos não apresentam capacidades de compor toda a demanda da planta em todos os seus estágios fenológicos (POTTKER E WIETHOLTER, 2004). Além disso, há outras formas que são capazes de fornecer N, onde a própria rotação conjunta a leguminosas torna-se muito eficiente, e também o uso de adubos minerais e orgânicos (AMADO et al., 2001).

No entanto, cada vez mais há buscas e estudos sobre alternativas biológicas para auxiliar no suprimento de N, como por exemplo, o uso de inoculante com bactérias do gênero *Azospirillum*. Estas quando associadas à rizosfera das raízes das plantas de milho podem contribuir com a nutrição nitrogenada delas. Além de possuírem a capacidade de fixar o nitrogênio biologicamente, ainda tem habilidades como a produção de hormônios vegetais, os quais atuam no desenvolvimento radicular das plantas (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2017).

Conforme Hungria (2011), a inoculação em milho pode trazer bons resultados, tendo um maior crescimento vegetal onde se tem também o aumento da matéria seca e na produção final, que chega a 26%. Além disso pode reduzir o custo em fertilizantes em 20%. O inoculante contém uma grande concentração de bactérias vivas fixadoras de nitrogênio, que são destinadas a essa cultura, no entanto deve-se ter inúmeros cuidados, tanto na hora de adquiri-lo como quando irá utiliza-lo, justamente por trabalhar com seres vivos e sensíveis a temperaturas mais elevadas.

O uso, e os trabalhos com bactérias fixadoras de nitrogênio e promotoras de crescimento em culturas não leguminosas, relativamente é recente, não havendo conhecimento de todos os efeitos e interações que essa prática pode ocasionar (REIS, 2007). E como alguns autores relatam, que a bactéria também é promotora de crescimento, objetivou-se nesse trabalho avaliar se há um aumento nas raízes das plântulas ou de parte aérea, bem como a eficiência das mesmas, quando submetidas a temperaturas pouco mais elevadas. Roberto; Silva e Lobato (2010) salientam que, é necessário estudos mais aprofundados onde consigam identificar, se realmente ocorrem esses efeitos, a modo que a planta consiga absorver melhor os nutrientes e

que se possa reduzir as aplicações de fertilizantes nitrogenados obtendo aumentos na produtividade.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L.) pertence à família Gramínea/Poaceae, é cultivado há mais de 8000 anos em muitos lugares do mundo devido à sua grande adaptabilidade, bom rendimento produtivo, além de seus vários genótipos que proporcionam ao produtor bom retorno financeiro. Além disso, a sua importância se deve principalmente as inúmeras formas de utilização e também às facilidades de propagação da planta, que muitas vezes apresenta-se como um método tradicional e cultural dos produtores (BARROS; CALADO, 2014).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho chegando a produzir mais de 58 milhões de toneladas/ano. Este cereal é cultivado em todos os cantos do país, mesmo com condições de solo e clima distintos e em diferentes sistemas de produção, destacando-se as propriedades pequenas e que possuem mão de obra familiar. Sobretudo a cultura carrega consigo uma enorme importância econômica e social, onde ao mesmo tempo evidencia a existência de grandes variações nas formas de produção (WORDELL FILHO E TAVARES ELIAS, 2012).

A produção de milho no Brasil é dividida em duas safras, chamadas de safra e safrinha, sendo que o período de plantio no (Rio Grande do Sul) da primeira safra inicia em agosto estendendo-se até dezembro. Já para a segunda safra o período é de janeiro até março (CONAB 2018).

Ainda segundo Conab (2018), a produção de milho foi de aproximadamente 91,1 milhões de toneladas, sendo esta produção distribuída em 27,4 milhões de toneladas na primeira safra e 63,7 milhões de toneladas na segunda safra.

O setor produtivo agrícola no Brasil vem mudando nas últimas décadas; nos anos de 1990/91 prevalecia o cultivo do milho de primeira safra com 94% e a safra de verão com 6%. Este cenário teve uma grande mudança no decorrer dos anos, sendo que na safra 2013/14 a oferta de segunda safra representou 58,2%. Mudança essa que se deu em razão dos avanços tecnológicos e a ajustes nos períodos de cultivo, com destaque para soja, principal cultura antecessora do milho de segunda safra (BARROS; ALVES, 2015).

No que refere-se ao desenvolvimento da cultura, este pode ser afetada por inúmeros fatores, sobre quais são necessário um certo conhecimento para obtermos sucesso, a citar os principais: potencial genético da semente, condições edafoclimáticas, local adequado a semeadura e um manejo correto na lavoura (MUNDSTOCK; DA SILVA, 2005).

O déficit hídrico é um dos grandes limitantes para a produção de milho, ou seja, é o grande fator responsável pelas oscilações das safras nas principais regiões produtoras do Brasil. Reduções nas colheitas normalmente são mais intensas e frequentes no Rio Grande do Sul, onde a falta de água costuma ocorrer sempre no período crítico da cultura, que vai do pendoamento ao início do enchimento de grãos (BERGAMASCHI et al., 2006). Por esta razão, é de grande importância sempre escolher e estar a par da época mais indicada para a semeadura de acordo com o zoneamento climático da determinada região, evitando assim, perdas na produtividade pela probabilidade de ocorrer possíveis estiagens nos períodos críticos da cultura (DUARTE et al., 2011).

Um dos elementos preocupantes e também limitantes de produção, é a incidência de plantas daninhas, as quais necessitam para o seu desenvolvimento e sua permanência os mesmos fatores exigidos pela cultura do milho. Estas quando presentes geram inúmeras competições, água, luz, espaço entre outros, além de apresentarem efeitos alelopáticos sobre a cultura (KARAM; MELHORANÇA; OLIVEIRA, 2006).

Outro fator crucial e que muito pode limitar a produtividade do milho, é o ataque de pragas e doenças, sendo que nos estágios iniciais da cultura já se pode observar a presença e os danos caso o tenha e não for logo controlado. As melhores maneiras de prevenir e evitar os estragos, é realizar frequentemente o monitoramento da área durante o ciclo da planta, também buscar alternativas que prevalecem ao não aparecimento e diminuição de ataques a lavoura. Optar por variedades certificadas e resistentes, adotar um manejo adequado no solo, plantio dentro do período certo e uma padronizada rotação de culturas, são métodos que se certificam no âmbito de prevenção a esses problemas (WORDELL FILHO et al., 2016).

Apesar de que o milho é cultivado em diversos solos, ele adquire uma melhor resposta quando produzido em solos bem estruturados, que possuem uma boa aeração, capacidade de armazenar quantidades de água, além de uma boa disponibilidade de nutrientes a planta. Em relação ao pH, a cultura até certo ponto é

tolerante, se desenvolvendo bem quando estiver numa faixa de 5 a 8, porém quando pende próximo a 5 pode acabar se tornando tóxico a planta (BARROS E CALADO, 2014). Ainda segundo Barros e Calado (2014), as temperaturas ideais para o desenvolvimento da cultura estão entre 25 e os 35 °C, e as melhores produções ocorrem quando as médias ficam entre 21 e 27 °C.

Em anos anteriores as técnicas de cultivo e de preparar o solo eram diferentes das atuais, sendo que os métodos indicados eram a partir do revolvimento aração e gradagens (GALVÃO et al., 2014). À medida em que o tempo foi passando e os estudos sendo mais aprofundados, essas práticas acabaram sendo alteradas havendo a adoção de outros meios com menor agressividade, como o cultivo mínimo e sistema plantio direto, onde não há praticamente revolvimento no solo e ainda mantendo a palhada na superfície (REIS et al., 2007).

O uso da rotação de culturas, principalmente com leguminosas, vem sendo cada vez mais aconselhado, uma vez que elas apresentam vantagens diferenciadas quando comparadas a outros grupos de plantas. Além de melhorar as propriedades físicas e biológicas do solo, também trazem para a superfície os nutrientes que estão no subsolo, possibilitando a substituição parcial e até total da adubação nitrogenada (PAULA, 2019).

O milho ganha uma boa vantagem quando se tem na área de cultivo uma adequada rotação de culturas, pois ao usar plantas na cobertura do solo no período de inverno, elas apresentam capacidades em fixar e reciclar nitrogênio e nutrientes, proporcionando também maior proteção ao solo (SILVA et al., 2007).

Em relação as exigências nutricionais da cultura do milho, elas passam a ser determinadas a partir da quantidade de nutrientes que a planta irá extrair durante o seu ciclo. Essa remoção vai depender no entanto, do ganho que obteve e do acúmulo de nutrientes nos grãos e na palhada. Logo, conforme a quantidade em que as plantas irão extrair durante o ciclo, será necessário que se faça uma nova reposição, essa sendo então na forma de adubação (COELHO E FRANÇA, 2015).

Conforme Coelho (2006), nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio e fósforo nesta ordem, são os nutrientes que a cultura do milho mais exige, e ainda, a medida que aumenta a produtividade também aumenta a extração dos mesmos. Já os micronutrientes, são menos exigidos, porém a falta de um deles pode ocasionar perdas tanto como na deficiência de um macronutriente, como por exemplo o nitrogênio.

2.2. NITROGÊNIO

O nitrogênio (N) é um elemento muito importante e essencial a todos os seres vivos. Este nutriente é necessário em grandes quantidades, pois é um componente fundamental de proteínas, e para as plantas pode ser um fator muito limitante, tanto quanto a água para o crescimento e desenvolvimento das mesmas (VIEIRA, 2017).

Grande parte do nitrogênio (N), (90% ou mais), se encontra na fração orgânica do solo, a qual possui um grande reservatório de forma mais prontamente livre, como a nítrica e a amoniacal. Estas formas minerais por mais que apresentam uma pequena parcela do N total, possuem uma grande no ponto de vista nutricional, pois são elas que são absorvidas pelos micro-organismos e vegetais (MORO et al., 2013).

Em relação do N com as plantas, ele é constituinte de vários compostos orgânicos, como aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas, enzimas e clorofilas. E no milho, o nitrogênio é o nutriente que mais limita a produtividade, ou seja ele é o mais exigido. E ainda, na medida que aumenta o fornecimento desse elemento, há também um percentual de elevação na produção do cereal (OLIVEIRA et al., 2013).

Conforme descreve (SEGINCK, 2003), a presença do nitrogênio também faz com que as plantas tenham uma série de benefícios, aumento no crescimento, folhas com cores verdes escuras, tamanho de raízes que também influenciará na absorção de diversos nutrientes, entre outros. No entanto se esse elemento estiver ausente, fará com que a cultura não se desenvolverá direito e acarretará com deficiências, tanto em folhas deformadas e amareladas como na diminuição das ramificações e caules mais finos. No caso do milho, além do que foi citado, ele terá espigas visualmente reduzidas também inúmeros grãos vazios.

A disponibilização do nitrogênio no solo acontece de várias formas, através da decomposição orgânica, pela incorporação de materiais inorgânicos, fixação biológicas e por descargas elétricas, as mais comuns. Dentre isso também acontecem as perdas, onde estão relacionadas muitas vezes a uma elevada dose de N sobre a cultura e aplicada na forma inadequada. Estas perdas podem ser por lixiviação, volatilização, desnitrificação ou então absorvidas pelas plantas (POLETTI, 2004).

Perdas por escoamento superficial é uma das principais formas, onde a maioria dos nutrientes são transportados pela enxurrada, associados aos sedimentos ou dissolvidos na água. As perdas começam quando as gotas de chuva se misturam

com a camada fina de solo, soltando os nutrientes e resíduos culturais (BERTOL et al., 2005). Estes autores escrevem ainda que

a perda de nitrogênio via enxurrada pode ocorrer tanto na forma solúvel como na forma particulada (N orgânico + N mineral ligado ao sedimento). As formas solúveis de nitrogênio, nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+), mas principalmente o nitrato, são normalmente encontradas em baixas concentrações no escoamento superficial, enquanto que o N particulado é a principal forma de N transportado via superfície.

As perdas por volatilização acontecem normalmente na forma de amônia onde os solos apresentam, altas temperaturas, valores elevados do PH e grandes quantidades de cobertura vegetal (TASCA et al., 2011).

A desnitrificação segundo Carvalho e Zobot (2012, p.8)

é um processo pelo qual bactérias convertem o NO_3^- para N na forma de gás que é perdido para a atmosfera. Bactérias denitrificantes usam NO_3^- em vez de oxigênio nos processos metabólicos. A desnitrificação ocorre onde há solo alagado e onde há matéria orgânica suficiente para fornecer energia para as bactérias. Por estas razões, a desnitrificação é geralmente limitada ao solo. A desnitrificação pode avançar rapidamente quando os solos são quentes e tornam-se saturadas por dois ou três dias.

A absorção do nitrogênio pelo milho pode ser tanto na forma nítrica como a amoniacal, neste ponto a idade da planta tem influência. Em estágios iniciais preferencialmente o íon amônio é utilizado e nos finais o nitrato (DUETE et al., 2009).

A ureia ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$), é um dos fertilizantes mais consumidos do mundo, no entanto outras tecnologias estão sendo agregadas a esse nutriente para se ter uma maior eficiência. Essa razão se deve pelas grandes perdas que se tem por volatilização (CARVALHO et al., 2015).

De acordo com Sangoi, Ernani e Biachet (2009), o uso de quantidades elevadas de nitrogênio resulta em danos, tanto nas plantas como no solo. Os fertilizantes nitrogenados são sais, logo as altas concentrações junto as sementes ou raízes fazem com que ocorra a inibição e absorção de água pelas plantas, e no solo afetando diretamente o pH. Por isso, recomenda-se doses adequadas perante análises e aplicações em períodos que a planta mais necessita.

2.3. FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

O nitrogênio é um dos nutrientes essenciais para as plantas e considerado o mais caro. Apesar da sua alta disponibilidade é o que consome mais energia para sua produção industrial, além disso pode se tornar o elemento mais poluente, porém um grande limitante a produção vegetal (JUNIOR, MENDES, 2008).

Segundo Junior e Mendes (2008), o mais importante processo biológico após a fotossíntese, é a fixação biológica de nitrogênio (FBN). Baseado no fato em que alguns microrganismos possuem capacidades de quebrar a ligação que liga os dois átomos de nitrogênio atmosférico (N_2), transformando-o em amônia (NH_3), que é assimilável pelas plantas. E ainda, se esta associação (microrganismos - plantas) for eficiente, o N fixado poderá suprir as necessidades do vegetal, e claro que, reduzir parcial ou totalmente do uso de fertilizantes nitrogenados.

A fixação biológica de nitrogênio se dá principalmente em plantas leguminosas, pois há uma grande interação entre planta e a bactéria fixadora. Além de possuírem diversas interações, nas plantas há a formação de nódulos nas raízes e são incorporados íons de hidrogênio H^+ a amônia sendo transformados em íons amônio NH_4^+ (FAGAN et al., 2007).

Na cultura da soja uma das principais fontes de nitrogênio é através da fixação biológica, com destaque para as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* que colonizam as raízes das plantas. Há muitos lugares em que a cultura é implantada sem adubos nitrogenados onde a simbiose obtém grande parte do nitrogênio necessário, e a pequena parcela que é retirada do solo acaba sendo restituída novamente pela incorporação dos restos vegetais, sendo então desnecessário formulações de adubo que contenham nitrogênio (DOBBEREINER, DUQUE, 1980).

Em gramíneas, há um grande interesse na fixação biológica e muito vem sendo estudado sobre os benefícios para a planta. Quando inoculadas, por possuírem um sistema radicular fasciculado, conseguem ter uma melhor absorção de água e nutrientes do solo em relação as leguminosas que possuem um sistema pivotante. Então, mesmo que uma parte ao menos do nitrogênio fosse fornecida pela associação com bactérias fixadoras, a economia em adubos nitrogenados seria igual ou superior a aquela que se tem em leguminosas, sendo auto – suficientes em nitrogênio (BÁRBARO; BRANCALIÃO; TICELLI, 2008).

Bárbaro; Brancalião; Ticelli (2008) descrevem também que, nos últimos anos muitas descobertas foram feitas quanto ao potencial que as bactérias diazotróficas microaeróbicas, do gênero *Azospirillum*, fixadoras de nitrogênio atmosférico possuem. Elas quando associadas à rizosfera das plantas conseguem contribuir com a nutrição nitrogenada das mesmas, e ainda, o manejo correto de uma associação *Azospirillum* spp com a cultura do milho, poderá resultar em incrementos na produtividade e diminuição nos custos de produção, principalmente da aquisição adubos nitrogenados, os quais são os mais essenciais para a cultura.

2.4. INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO COM *Azospirillum brasilense*

A cada ano que passa cresce a demanda por milho, tanto em nível nacional quanto mundial, sendo também grande a necessidade de reduzir o uso de insumos externos, uma vez que eles demandam boa parte dos custos de produção. Vários estudos vem sendo feitos, e uma das alternativas que vem sendo apontada e a inoculação de sementes com bactérias diazotróficas, as quais possuem a capacidade de fixar nitrogênio, já que o mesmo é o mais requerido pela cultura (BULLA E JUNIOR, 2012).

No Brasil a bactéria mais estudada para a cultura do milho é *Azospirillum brasilense*, pois ela é capaz de disponibilizar nitrogênio atmosférico às plantas. A inoculação é através do uso de inóculo juntamente com turfa ou inoculante líquido que melhora a fixação nas sementes, procedimento esse realizado antes do plantio (DHEIN et al., 2014).

As sementes de milho ao serem inoculadas devem ter o máximo de bactérias junto ao sistema radicular, pois além de contribuírem na fixação do nitrogênio, podem influenciar também no crescimento radicular das plantas, pois possuem características de serem bactérias promotoras de crescimento (CAVALLET et al., 2000).

Com a inoculação pode ocorrer algumas mudanças na estrutura radicular da planta, onde estimula o crescimento das raízes implicando em vários outros efeitos que podem incrementar a absorção de água e nutrientes e uma maior tolerância a estresses como salinidade e seca. As bactérias promotoras de crescimento produzem auxinas, giberelinas e citocininas, comprovando dessa forma que a inoculação com

bactérias envolve outros processos mais complexos que a fixação biológica de nitrogênio (BÁRBARO; BRANCALIÃO; TICELLI, 2008).

Cavallet et al. (2000), observaram, em estudos que foram realizados sobre a eficiência do *Azospirillum brasilense* no milho aumentos na produtividade de 30% nos tratamentos que as doses de nitrogênio fornecidas as plantas eram maiores. No quesito da planta de milho aumentar a produtividade com a presença do inoculante nos tratamentos em que se tinha maior adubação, comprova as características já citadas no decorrer do trabalho, das bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* spp. Elas não possuem capacidade de fornecer todo o nitrogênio requerido a planta de milho como no caso das leguminosas, porém, atuam como um complemento para uma melhor absorção do nitrogênio disponível.

Em trabalho realizado por Libório et al. (2016), plantas inoculadas apresentaram maior produção de matéria seca de raízes ao comparado com plantas não inoculadas. Foi constatado também que, dependendo do parâmetro analisado, verifica-se que a metade da dose de nitrogênio recomendada para a cultura se complementada com a inoculação a base de *Azospirillum brasilense*, dará os mesmos resultados de que quando adicionar o dobro da carga na cultura. Resultados que geram benefícios tanto econômicos como ambientais, uma vez que as menores doses de nitrogênio refletem a menores custos e reduzem a poluição ambiental causados pelas perdas dos fertilizantes por lixiviação e volatilização.

Bulla e Junior (2011), num trabalho realizado em Erval Velho, SC, observaram que o aumento na produtividade de grãos de milho foi de aproximadamente 4,5% com a inoculação. Isso demonstra os efeitos benéficos da inoculação para a aquisição de maiores produtividades com a cultura. Entretanto, ressalta-se que o resultado de espécies de gramíneas a inoculação pode ser influenciada pelas características genéticas das plantas e das estirpes, assim como pelas condições do ambiente.

Há alguns estudos em que os autores não observaram nenhum resultado com a inoculação de *Azospirillum brasilense* em sementes de milho. Em um dos trabalhos onde avaliaram, aumento no rendimento de grãos, massa de mil sementes, estatura das plantas, altura e inserção de espiga principal e diâmetro do colmo, nenhuma influência houve com a inoculação, segundo o que descrevem no trabalho realizado por Pandolfo et al (2015).

A inoculação com *Azospirillum brasilense* é feita na semente e em alguns raros casos no sulco. Essa inoculação é igual a aplicação de *Bradhyrizobium* na cultura da

soja. Aplica-se o produto na forma líquida ou sólida, e como se trabalha com bactérias deve-se ter cuidados evitando expor o milho inoculado ao sol e em altas temperaturas, bem como evitar o contato com produtos químicos e realizar a semeadura do milho dentro de um período recomendado para que as bactérias consigam expressar sua máxima eficiência e obter resultados satisfatórios (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

2.5. INOCULANTE *Azospirillum brasilense*

O Brasil é precursor na questão de inocular sementes com organismos envolvidos em processos de fixação biológica de nitrogênio, grande prova disso quando o assunto se trata de soja, pois sendo enorme o uso de inoculantes nessa cultura. É a partir daí que começa os estudos e o interesse por bactérias que possuem capacidades de beneficiar culturas não leguminosas, como exemplo a do milho, que muito depende de adubos nitrogenados (CADORE et al., 2016).

O país progrediu nesta questão, sendo hoje possível encontrar inoculantes com bactérias do gênero *Azospirillum* receitado para inúmeras espécies que pertencem a família Poaceae, sendo especialmente usados e estudados na cultura do milho. Essa bactéria possui vida livre no solo e apresenta grande capacidade de fixação biológica de nitrogênio associadas a plantas, no entanto ela não têm capacidade de formação de nódulos nas raízes como acontece em leguminosas (CADORE et al., 2016).

A bactéria *Azospirillum brasilense* foi selecionada pela EMBRAPA Soja de Londrina juntamente com a Universidade Federal do Paraná (UFPR). Lá também foram conduzidos vários experimentos com resultados positivos tanto em milho quanto em trigo. Pesquisadores apontam que com o uso desse inoculante é possível economizar cerca de um bilhão de dólares por safra de milho em todo o país e ainda diminuir os danos causados à natureza. Eles descrevem ainda que, onde há produção de baixos investimentos, é possível substituir quase todo fertilizante químico nitrogenado pelo inoculante. Onde se esperam rendimentos maiores, estima-se que seja possível reduzir em até 50% o uso desses fertilizantes (ROBERTO; SILVA, LOBATO, 2010).

A inoculação com *Azospirillum brasilense* se comparada com a adubação nitrogenada, possui um ponto positivo, que é o fato de não haver perdas do nitrogênio fixado. Porém o uso de fixadores biológicos de nitrogênio na cultura do milho possuem alguns problemas, que é o fato das sementes virem tratadas industrialmente, e para que seja mais rápido na hora da semeadura acabam não fazendo a inoculação aplicando-o o mesmo via foliar por se tornar mais prático ao produtor que não consegue realizar no momento da semeadura (BEREZOSKI et al., 2013).

Atualmente há uma grande procura de inoculantes para a cultura do milho, os quais conseguem extrair o nitrogênio do ar e conceder à planta sem perdas por volatilização. O uso de bactérias do gênero *Azospirillum*, usado corretamente, podem promover o crescimento das plantas e conseqüentemente aumentar a produtividade, ou seja, esta simbiose poderá resultar em ganhos de produção e redução dos custos, uma vez que eles estão cada vez mais elevados e o produtor precisa reduzi-los (CICILATO, CASIMIRO, 2015).

Conforme descreve Müller (2013), quando inoculamos as sementes de milho com *Azospirillum* acontece uma modificação na morfologia do sistema radicular da planta, pela produção de substâncias promotoras de crescimento, havendo não só um aumento do número de radículas, também diâmetro das raízes laterais e adventícias da planta, elevando assim o volume de solo explorado e conseqüentemente melhor absorção dos nutrientes.

Para que as bactérias consigam desempenhar o seu potencial de fixação de nitrogênio e promoção do crescimento, elas dependem imensamente das condições externas bióticas e ambientais, e as que podem ser destacadas como principais são; genótipo da planta, microbiologia do solo e a quantidade de nitrogênio que está sendo disponibilizada para a planta (FREITAS, RODRIGUES, 2010).

A inoculação de *Azospirillum brasilense* acontece junto a semente de milho, e em alguns casos no sulco. O produto é utilizado na forma líquida ou sólida, e como se trata de bactérias, o máximo de cuidado deve ser tomado; no adquiri-lo certificar se estava em local adequado e com temperaturas ideais, mistura-los bem para que a distribuição seja uniforme e dar o máximo de atenção quanto a temperaturas, tanto no depósito quanto na lavoura, não deixando as sementes inoculadas expostas ao sol, pois como já citado, as bactérias são vivas e as mesmas não suportam temperaturas elevadas (HUNGRIA, 2011).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de fisiologia vegetal da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Cerro Largo – RS, no período de agosto à setembro de 2019, em uma estufa incubadora do tipo BOD. Para a realização deste experimento, foi utilizada a cultivar de milho FERROZ VIP3 da Syngenta, e o inoculante líquido à base de *Azospirillum brasilense*, estirpes AbV5 E AbV6 de nome comercial GRAMMY CROP.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, contando de seis tratamentos com quatro repetições cada.

Os tratamentos tiveram cinco diferentes temperaturas (Tabela 1), onde as sementes após inoculadas ficaram por um período de duas horas. As testemunhas não foram inoculadas

Tabela 1: Tratamentos e condições avaliadas no experimento.

Tratamentos	Condições Avaliadas
T1	Testemunha (sem inoculação)
T2	Inoculação + submeter à 20 °C
T3	Inoculação + submeter à 25 °C
T4	Inoculação + submeter à 30 °C
T5	Inoculação + submeter à 35 °C
T6	Inoculação + submeter à 40 °C

Fonte: Elaborada pelo autor.

Após feita a inoculação das sementes e submetidas nas diferentes temperaturas, foram colocadas em rolos de papel germitest, molhados com água destilada de acordo com as necessidades, também colocadas em sacos plásticos e em seguida foram colocadas para o processo germinativo na temperatura de 25°C por um período de 7 dias (Figura 1), com o objetivo de realizar o teste de germinação como recomendado pelo Brasil (2009). Em cada tratamento foram utilizadas 400 sementes divididas em 16 papel Germitest, sendo 25 em cada.

Para o teste de crescimento de plântulas que foi realizado separadamente do teste de germinação, foi utilizado 40 sementes por tratamento, colocando 10 sementes por papel germitest, tendo então 4 repetições de 10 sementes por tratamento, sendo estes acondicionados por um período de dez dias na estufa BOD, também na temperatura de 25 °C como recomendado (BRASIL, 2009).

Figura 1: Registro dos testes sendo colocados para o processo de germinação na BOD.



Fonte: Elaborada por autor.

Quanto à inoculação, foi utilizado a suspensão líquida contendo a estirpe da bactéria *Azospirillum brasilense*, a qual foi aplicada sobre as sementes na quantidade recomendada pelo produto, que no caso é de, 100 ml para 25 kg de semente.

3.1. AVALIAÇÕES

Avaliações da porcentagem de germinação: foi calculada a porcentagem de germinação, onde foi considerada germinada a semente que apresentou radícula igual

ou superior a dois milímetros (BRASIL, 2009). A porcentagem de germinação foi calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$G = (N/A) * 100$$

Onde:

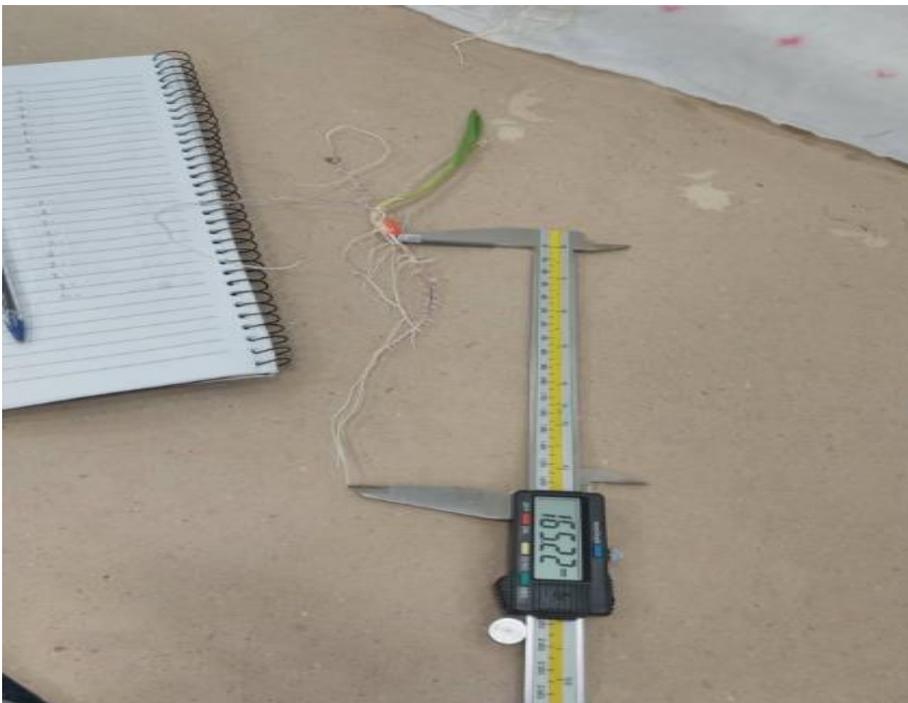
G= Percentagem de germinação.

N= número total de sementes germinadas ao final do experimento.

A= número total de sementes colocadas para germinar.

Avaliações para o teste de crescimento de plântulas: foi avaliado o comprimento de radícula e parte aérea, utilizando um paquímetro digital (Figura 2) e feita a medição de todas as sementes que tiveram radícula maior ou igual a dois milímetros (BRASIL, 2009).

Figura 2: Registro das avaliações, parte aérea e raiz de plântulas de milho.



Fonte: Elaborado por autor.

Após feita as medições (parte aérea e raiz), com uma tesoura foram cortadas todas as raízes das plântulas e armazenadas em sacos de papel, sendo estes

identificados e colocados na estufa previamente regulada a uma temperatura de 80°C por um período de 24 horas. Posteriormente foi determinado a massa seca da raiz com o auxílio de uma balança de precisão.

3.2. ANÁLISE DOS DADOS

O dados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando comparadas à testemunha, os tratamentos não apresentaram diferença estatísticas na porcentagem de germinação (%GERM), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CRAI) e nem massa seca da raiz (MSR), (Tabela 2). BARILLI, Diandro Ricardo et al. (2011) obtiveram resultados semelhantes em um trabalho onde, o milho foi inoculado com *Azospirillum brasiliense* em diferentes períodos antes da semeadura, não apresentando diferenças estatísticas para o índice de velocidade de emergência (IVE), porcentagem de germinação (%G), massa seca da raiz (MSR), e massa seca parte aérea (MSPA).

Tabela 2: Porcentagem de germinação (%GERM), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CRAI) e massa seca da raiz (MSR), variando em função da inoculação em diferentes temperaturas.

Tratamentos	% GERM	CPA (cm)	CRAI (cm)	MSR (g)
Testemunha	99,25 a	11,02 a	11,02 a	0,32 a
Inoculação + 20°C	99,50 a	11,22 a	15,25 a	0,29 a
Inoculação + 25°C	98,50 a	11,50 a	16,07 a	0,35 a
Inoculação + 30°C	98,75 a	10,50 a	14,27 a	0,26 a
Inoculação + 35°C	98,50 a	10,82 a	14,90 a	0,29 a
Inoculação + 40°C	98,50 a	10,30 a	15,15 a	0,34 a
C.V. (%)	1,05	8,7	24,1	24,87

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Fonte: Elaborada pelo autor.

Em um trabalho sobre o comportamento de genótipos de milho, inoculados com *Azospirillum brasilense*, ARANTES, Ana Carolina Costa et al. (2016), também não tiveram resultados com a inoculação quando as variáveis avaliadas foram: altura da planta, diâmetro do caule, teor relativo de clorofila, área foliar total, massa seca do colmo e das folhas foram avaliados nos estágios V4 e R1 do milho.

Para se chegar até dados mais concretos, o ideal seria conduzir a cultura até o final de seu ciclo, e avaliar os potenciais durante todo o ciclo cultural. Estudos apontam que os efeitos proporcionados por estes microrganismos são provenientes de transformações morfológicas e fisiológicas nas raízes das plantas inoculadas, gerando incremento na absorção de água e nutrientes. E, possivelmente, o maior acúmulo de nutrientes e de matéria seca, sejam também oriundos das produções de substâncias promotoras de crescimento pelas bactérias (REIS JUNIOR et al., 2008).

Conforme REIS (2007), os diferentes resultados decorrentes de trabalho envolvendo *Azospirillum* spp., estão ligados a interações edafoclimáticas e interações com a biota do solo, além de fatores ligados à bactéria tais como; o número ideal de células por semente e a fisiologia da semente. Nesse sentido o importante seria a contagem do número de células por planta, pois a falta de resultados significativos pode estar relacionada ao não desenvolvimento das bactérias fixadoras.

5. CONCLUSÕES

A presença do inoculante neste trabalho, estatisticamente não afetou nenhum parâmetro analisado, quando comparado a testemunha. No entanto como já citado a cima, o ideal seria ter implantado a cultura e acompanhado até o final para obter dados mais precisos, mesmo que em outros trabalhos também não obtiveram resultados satisfatórios.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMADO, T. J. C.; BAYER, C.; ELTZ, F. L. F.; BRUM, A. C. R. Potencial de culturas de cobertura em acumular carbono e nitrogênio no solo no plantio direto e a melhoria da qualidade ambiental. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, 25:189-197, 2001.

AMADO, T. J. C.; MIELNICZUK, J.; AITA, C. Recomendações de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.241-248, 2002.

ARANTES, Ana Carolina Costa et al. Comportamento de genótipos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense*. XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo “Inovações Mercados e Segurança Alimentar”. Bento Gonçalves – RS, 2016.

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

BÁRBARO, I; BRANCALIÃO, S; TICELLI, M. É possível a fixação biológica de nitrogênio no milho? Pesquisa e Tecnologia, v. 5, n. 1, jan/jun 2008.

BARROS, José F. C.; CALADO, José, G. **A cultura do milho**. 1. ed. Évora, 2014. 52 p. Disponível em:<<http://hdl.handle.net/10174/10804>> Acesso em: 13 mar. 2019.

BARROS; ALVES. Maior eficiência econômica e técnica depende do suporte das políticas públicas. In **Revista Visão Agrícola**. São Paulo: ESALQ, 2015. V. 13, p. 4-6.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 399 p. 2009.

BERTOL, O. J. et al. **Perdas de nitrogênio via superfície e subsuperfície em sistemas de semeadura direta**. Floresta, Curitiba, PR, v.35, n.3, dez.2005.

BERGAMASCHI, H. et al. **Déficit hídrico e produtividade na cultura do milho**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.41, p.243-249. 2006.

BEREZOSKI, Rafael et al. **Aplicação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho via semente, foliar ou no sulco da semeadura?** In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (EAIC), 22. 2013, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Foz do Iguaçu – PR, 6 a 8 de novembro de 2013.

BULLA, Diego; JUNIOR, Alvadi, A. B. Desempenho da cultura do milho em função da inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* em doses de nitrogênio. **Embrapa Soja (CNPSo)**, 2011. Disponível em: < <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/51686/1/milho5-1-diego-bulla.pdf> >. Acessado em: 9 abril 2019.

BULLA, Diego; JUNIOR, Alvadi, A. B. Inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* em diferentes doses de nitrogênio. **Revista Agropecuária Catarinense**, v. 25, n. 2, jul, 2012.

CADORE, Rafael et al. Híbridos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense* sob diferentes doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 15, n. 3, pag. 389 – 409, 2016.

CARVALHO, N. L.; ZABOT, V.; Nitrogênio: Nutriente ou Poluente? v (6), nº 6, p. 960 – 974 – 2012. **Rev. Elet, em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental** (e-ISSN: 2236- 1170).

CARVALHO, Maria da. C. S. Volatilização de amônio proveniente de ureia comum e ureia com tecnologia agregadas em arroz de terras altas. **O solo e suas múltiplas funções**. XXXV Congresso Brasileiro de Ciências do Solo, agosto de 2015.

CAVALLET, Luiz, E. et al. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, vol. 4, n. 1, p. 129-132, 2000.

COELHO, A. M. Nutrição e adubação do milho. **Embrapa Milho e Sorgo** – Circular técnica, 78. Sete Lagoas 2006.

CICILIATO, Adriano, L; CASIMIRO, Evandro, L. N. Inoculante *Azospirillum brasilense* via foliar associado a diferentes fertilizantes foliares na cultura do milho. **Revista Cultivando o Saber**. Edição especial, p. 1 – 10, 2015.

COELHO, A. M; FRANÇA, G. E. Nutrição e adubação do milho. **Embrapa Milho e Sorgo**. 11 de fevereiro de 2015. 27p. Disponível em: < <https://www.trabalhosfeitos.com/ensaios/Nutri%C3%A7%C3%A3o-e-Aduba%C3%A7%C3%A3o-Do-Milho/67814356.html> > Acessado em 29 mar. 2019.

CONAB. Companhia Nacional do Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, V.6 – Safra 2018/2019 - N.3 – Terceiro Levantamento/ dezembro de 2018. Acomp. Safra bras. Grãos, V.6 – Safra 2018/2019 – Terceiro Levantamento, Brasília, p. 1-127, dez. 2018.

CONAB. Companhia Nacional do Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira Grãos**. V.6 – Safra 2018/2019 – N.5 – Quinto Levantamento / fevereiro de 2019. Acomp. Safra bras. grãos, V.6 - Safra 2018/2019 – quinto levantamento, Brasília, p. 1-125, Fevereiro 2019.

CRUZ, J. C., FILHO, I. A. P., ALVARENGA, R. C., NETO, M. G., VIANA, J. H. M, OLIVEIRA, M. F., MATRANGOLO, W. J. R., FILHO, M. R. A., **Cultivo do Milho**. Embrapa milho e sorgo. Sistemas de produção, 2 – 6ª Edição, 2010.

DOBBEREINER, Johanna ; DUQUE, Fernando, F. Contribuição da pesquisa em fixação biológica de nitrogênio para o desenvolvimento do Brasil. Revista Economia Rural. Vol. 18, n. 03, jul/set. 1980.

DUETE, Robson. R. C. et al. **Acúmulo de nitrogênio pelos grãos de milho em função da fonte nitrogenada em latossolo vermelho**. Bragantia, Campinas, v.68, n.2, 2009. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/brag/v68n2/21.pdf> > Acessado em 3 abri. 2019.

DHEIN, Marcos et al. **Efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho**. Simpósio de agronomia e tecnologia em alimentos. AGROTEC, 2014.

EMBRAPA, **O Produtor Pergunta, a EMBRAPA Responde/** Adilson Pereira Duarte... [et al.] – 1 ed. Brasília, DF: EMBRAPA, 2011. 333 p.

FAGAN, Evandro, B. et al. Fisiologia da fixação biológica de nitrogênio em soja. Revista FZVA. Uruguaiana, V.14, n.1, 2007.

FREITAS, Isabel, C. V.; RODRIGUES, Mariana, B. Fixação biológica do nitrogênio na cultura do milho. **Agropecuária Técnica**, v. 31, n. 2, 2010.

GALLO, L. A.; BASSO, L. C. **Metabolismo do Nitrogênio Ciclo do Nitrogênio**. Departamento de Ciências Biológicas, Universidade São Paulo – USP, 2012.

GALVAO, João, C. C. et al. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, supl. p. 819-828, Dec. 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-737X2014000700007&lng=en&nrm=iso>. Acessado em 27 mar. 2019.

HUNGRIA, M; CAMPO, R; MENDES, I. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. **Embrapa Soja, Documento 283**, Londrina-PR, Junho de 2007.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Embrapa Soja, Documento 325**, ISSN 2176-2937, Londrina-PR, Julho de 2011.

JUNIOR, Fábio, B. D. R; MENDES, Iêda, D. C. A fixação biológica de nitrogênio e o meio ambiente. **Revista Cultivar**, 2008.

KARAM, D., MELHORANÇA, A. L., OLIVEIRA, M. F. Plantas Daninhas na Cultura do Milho. Cap 9. **Circular Técnica, Embrapa Milho e Sorgo**, ISSN 1679-1150, 2006.

LIBÓRIO, Paloma, H. D. S. et al. Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada a adubação nitrogenada reduzida em híbridos de milho. **Nucleus**, v. 13, n. 2, out. 2016.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177,1962. Disponível em: <<https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/2/2/CS0020020176>> . Acessado em 12 jun. 2019.

MORO, E. et al. Teor de nitrogênio inorgânico no solo em função de plantas de cobertura, fontes de nitrogênio e inibidor de nitrificação. *Pesq. Agropec. Trop.*, Goiânia, v.43, n4. Out/dez, 2013. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/104851/1/moro.pdf>> . Acessado em 01 abr. 2019.

MÜLLER, Tânia Maria. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* associada a níveis crescentes de adubação nitrogenada e uso de bioestimulante vegetal na cultura**

do milho. 2013. 98 f. Dissertação (Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Agronomia). Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava – PR, 2013.

MUNDSTOCK, Claudio, M. **Manejo da cultura do milho para altos rendimentos de grãos.** In: DA SILVA, Paulo Régis. Departamento de Plantas de Lavoura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005. 51 p.

OLIVEIRA, L. R. DE. Et al. Eficiência na absorção e utilização de nitrogênio e atividade enzimática em genótipos de milho. **Revista Ciência Agronômica.** Centro de Ciências Agrárias – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CF, v44, n3, set, 2013.

PAULA, Evandro, M. D. Utilização de Leguminosas nas Práticas da Adubação Verde com Rotação de Culturas. **Jornal dia de Campo**, Wolf Seeds do Brasil S/A. Disponível em: <http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=21360&secao=Gest%E3o> > Acessado em 27 mar. 2019.

PANDOLFO, Carla, M. et al. Desempenho do milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a doses de nitrogênio em cobertura. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 27, fev. 2015.

POLETTI, Naracelis. **Nitrogênio no solo e na planta e o manejo da adubação nitrogenada em cevada no plantio direto.** 2004. 133f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

PÖTKER, D; WIETHÖLTER, S. **Épocas e métodos de aplicação de nitrogênio em milho cultivado no sistema plantio direto.** Ciência Rural, Santa Maria, v.34, n.4, p.1015-1020, julho, 2004. Disponível em:< <http://www.scielo.br/pdf/cr/v34n4/a07v34n4.pdf> > Acessado em 12 mar. 2019.

REIS, Veronica, Massena. Uso de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio como Inoculantes para Aplicação em Gramíneas. **Embrapa Agrobiologia**, Documentos, 232. Seropédica, RJ. 22 p., 2007.

REIS JUNIOR, F. B. et al. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, Brasília, v. 32, p. 1139–1146, 2008.

REIS, Gustavo, N. dos et al. **Decomposição de culturas de cobertura no sistema plantio direto, manejadas mecânica e quimicamente**. Eng. Agríc., Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 194-200, Abr. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69162007000100013&lng=en&nrm=iso>. Acessado em: 27 mar. 2019.

ROBERTO, V. M. O; SILVA, C. D. DA; LOBATO, P. N. **Resposta da cultura do milho a aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via sementes**. In: XXVIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. Disponível em: <http://www.abms.org.br/eventos_anteriores/cnms2010/trabalhos/0568.pdf>. Acessado em: 15 abri. 2019.

SANGOI, L; ERNANI, P. R; BANCHET, P. Desenvolvimento inicial do milho em função de doses e fontes de nitrogênio aplicados na semeadura. **Revista Biotemas**, dezembro de 2009.

SEGINK, E. S. Os macronutrientes e os micronutrientes das plantas. Versão 2003. **Calagem e adubação de Plantas Forrageiras**. 2003. Disponível em <<http://www.nupel.uem.br/nutrientes-2003.pdf>> Acessado em 2 de Abril de 2019.

SILVA, Adriano, A. D. et al. Sistemas de coberturas de solo no inverno e seus efeitos sobre o rendimento de grãos do milho em sucessão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 928-935, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782007000400002&lng=en&nrm=iso>. Acessado em 27 mar. 2019.

SOLOGUREN L. Demanda mundial cresce e Brasil tem espaço para expandir produção. In **Revista Visão Agrícola**. São Paulo: ESALQ, 2015. V. 13, p. 8-11. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/Esalq-VA13-Milho.pdf>> Acessado em 10 mar. 2019.

SZILAGYI-ZECCHIN, Vivian J.; MARRIEL, Ivanildo E; SILVA, Paulo R. F. da. Produtividade de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* em diferentes doses de nitrogênio cultivado em campo no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 4, 2017.

TASCA, F. A. et al. Volatilização de amônia do solo após a aplicação de ureia convencional ou com inibidor de urease. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, 2011.

VIEIRA, R. F. Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna SP, 2017. 1ed.163p.

WORDELL FILHO, J.A.; RIBEIRO, L. do P. ; CHIARADIA, L.A.; MADALÓZ, J. C.; NESI, C.N.; **Pragas e doenças do milho**: diagnose, danos e estratégias de manejo. Florianópolis: Epagri, 2016. 82p. Epagri. Boletim Técnico, 170. Disponível em: < http://circam.epagri.sc.gov.br/circam_arquivos/arquivos/agroconnect/boletins/BT_PragasDoencasMilho.pdf >. Acessado em 26 mar. 2019

WORDELL FILHO, J. A.; ELIAS, H. T. (Orgs.). **A cultura do milho em Santa Catarina**. 2.ed. Florianópolis: Epagri, 2012. 478p. Disponível em: < http://intranetdoc.epagri.sc.gov.br/producao_tecnico_cientifica/DOC_37613.pdf>.

Acessado em: 22 mar. 2019.