

Efeito residual da coinoculação com *Azospirillum brasilense* na soja e adubação nitrogenada no teor foliar de macronutrientes em milho

*Effects of wastes from co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybeans and nitrogen fertilization on corn leaves by macronutrients*

Aureane Cristina Teixeira Ferreira Cândido¹, Marco Antônio Camillo de Carvalho², Oscar Mitsuo Yamashita², Ricardo Adriano Felito³, Adriano Maltezo da Rocha⁴

RESUMO: Objetivou-se avaliar a resposta dos teores foliares de macronutrientes na cultura do milho sob adubação nitrogenada de cobertura e efeito residual da coinoculação de *Azospirillum brasilense* na soja. Semeou-se soja com dois tratamentos, constituídos pela inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* com e sem a coinoculação com *Azospirillum brasilense*, sendo semeado milho na sucessão. Os tratamentos para a cultura do milho foram constituídos pela combinação da inoculação residual de *Bradyrhizobium japonicum* e a coinoculação residual com *Azospirillum brasilense* na faixa (fator principal) aplicados nas sementes da soja e cinco doses de N (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹) aplicadas no milho segunda safra consorciado com *Urochloa ruziziensis* nas parcelas (fator secundário). Foi realizada determinação do teor foliar de N, P, K, Ca, Mg e S para cultura do milho. Foram realizadas as seguintes determinações: eficiência de utilização de nitrogênio (EUN), recuperação do nitrogênio aplicado (RNA), eficiência agrônômica do N aplicado (EA) e eficiência fisiológica (EF). Os dados das avaliações foram submetidos à análise de variância, sendo que as médias do fator qualitativo (inoculação) foram comparadas pelo teste F e para o fator quantitativo (doses de N), foi realizado o estudo de regressão polinomial. O resíduo da coinoculação no milho não elevou o teor de N foliar do milho, porém houve incremento de forma crescente conforme a dose de N aplicada. Para os demais nutrientes quantificados (P, Ca, Mg), houve tendência ao incremento foliar desses nutrientes na maioria das doses em relação a coinoculação e interação entre os fatores inoculação e doses de N. Para K e S não houve incremento de acordo com o resíduo da coinoculação. A coinoculação residual com *Azospirillum brasilense* na soja promove melhorias na fisiologia do milho cultivado em sucessão, gerando plantas com maior potencial produtivo e maior potencial de tolerância a estresses.

Palavras-chave: Bactéria diazotrófica. Nitrogênio. Nutrição de plantas. Sustentabilidade. *Zea mays* L.

ABSTRACT: Response of foliar rates of macronutrients in corn under nitrogen fertilization and the effects of waste of co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybeans are evaluated. Soybean was planted in two treatments, namely, inoculation of seeds with *Bradyrhizobium japonicum*, with and without co-inoculation with *Azospirillum brasilense*, followed by corn. Treatments for corn crop consisted of a combination of residual inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and the residual co-inoculation with *Azospirillum brasilense* within the band (main factor) applied to soybean seeds and five doses of N (0, 50, 100, 150 and 200 kg ha⁻¹) applied to second harvest, consorted with *Urochloa ruziziensis* in the splits (secondary factor). Foliar rate of N, P, K, Ca, Mg and S for corn crops was determined. Efficiency of nitrogen usage (EUN), recovery of applied nitrogen (RNA), agronomic efficiency of applied N (EA) and physiological efficiency (EF) were determined. Data underwent analysis of variance and means of quality factor (inoculation) were compared by F test, whilst polynomial regression was applied for quantitative factor (N doses). Corn inoculation residue did not increase the rate of corn foliar N. However, there was an increase according to the dose of applied N. In the case of other nutrients (P, Ca, Mg), foliar increase of nutrients was detected in most doses when compared to co-inoculation and interaction between inoculation factors and N doses. There was no increase in K and S when compared to co-inoculation residue. Residual co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean improves corn physiology cultivated in succession and generates plants with greater production potential coupled to greater stress tolerance.

Keywords: Diazotrophic bacterium. Nitrogen. Plant nutrition. Sustainability. *Zea mays* L.

Autor correspondente:

Aureane Cristina Teixeira Ferreira Cândido: aurianeferreira@botmail.com

Recebido em: 05/05/2020

Aceito em: 09/03/2021

¹ Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos pela Universidade do Estado do Mato Grosso (UNEMAT). Doutoranda no Programa de Pós-graduação em Sociedade, Natureza e Desenvolvimento pela Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), Santarém (PA), Brasil.

² Docente permanente do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos (PPGBioAgro) da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Alta Floresta (MT), Brasil.

³ Doutor em Agronomia (Horticultura) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Professor substituto no Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT), Campus de Alta Floresta (MT), Brasil.

⁴ Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos pela Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT). Doutorando em Agronomia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho campus de Jaboticabal (SP), Brasil.

INTRODUÇÃO

O milho é um cereal de grande importância para o agronegócio mundial, por ser considerado um dos principais insumos na produção de ração animal. Além disso, atualmente sua produção vem aumentando, pois vem sendo utilizado também como matéria-prima na produção de etanol (THOMAZINI *et al.*, 2019).

Nos últimos anos, a cultura do milho ganhou destaque no setor agrícola brasileiro devido principalmente ao aumento da produtividade. A média da produtividade de grãos na segunda safra 2019/20 foi de 5.456 kg ha⁻¹ e a produção total de 75,05 milhões de toneladas, ao passo que há 10 anos, na segunda safra de 2009/2010, a produtividade foi de 4.163 kg ha⁻¹ e a produção total de 21,94 milhões de toneladas. Dentre os principais fatores que contribuíram para o aumento da produtividade do milho, destaca-se o uso de tecnologias, como por exemplo, insumos e irrigação no manejo da cultura (CONAB, 2021).

No contexto da agricultura, é essencial o uso adequado e racional dos fertilizantes, onde se destacam os nitrogenados. O nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade pelas plantas, por exemplo, estima-se que 28 kg de N sejam necessários para a produção de uma tonelada de grão de milho (MULLER *et al.*, 2021), sendo constituinte de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, clorofila, fitohormônios, entre outros (TOMASI *et al.*, 2015). Os fertilizantes nitrogenados apresentam custo elevado e também representam potencial poluidor para o meio ambiente, mas podem ser substituídos, total ou parcialmente, pela ação de bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico e de bactérias promotoras do crescimento de plantas (CAMPO; HUNGRIA, 2014), através da inoculação e/ou da coinoculação.

A inoculação de sementes é o método mais comum de aplicação de micro-organismos benéficos. Formulações para a aplicação direta de sementes inclui pós, pastas e líquidos e são geralmente a base de turfa (DEAKER *et al.*, 2004).

A técnica alternativa da coinoculação ou inoculação mista consiste na utilização de combinações de diferentes micro-organismos. A coinoculação de bactérias associativas mostra várias funções sustentáveis, como alta fixação de nitrogênio, maior tolerância a condições ambientais adversas, aumento da capacidade de competir com a comunidade microbiana nativa, melhorias no crescimento da planta em comparação com a inoculação única (YEGORENKOVA *et al.*, 2016; KRUSUWAN; THAMCHAIPENET, 2016).

Nesse sentido, o uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), como o *A. brasilense* conjuntamente com *Bradyrhizobium* sp (fixadora de nitrogênio), pode ser eficiente na redução da aplicação de insumos químicos, além de diminuir os efeitos causados por estresses bióticos e abióticos e aumentar a produtividade da cultura. O inoculante, contendo estirpes de *A. brasilense*, pode ser aplicado no milho em três modalidades: (i) via inoculação das sementes; (ii) no sulco de semeadura; e (iii) via foliar. No Brasil, a maioria das pesquisas tem sido realizada via inoculação das sementes (KAPPES, 2017).

Azospirillum sp. pode ser inoculado em plantas de interesse agrícola para estimular o crescimento por meio de vários mecanismos, incluindo a síntese de hormônios vegetais, nutrição melhorada com nitrogênio, mitigação do estresse e o controle biológico da microbiota patogênica (BASHAN; DE-BASHAN, 2010). A fixação biológica de nitrogênio na planta durante a associação planta-bactéria é o processo pelo qual a bactéria fornece N fixo (CHUBATSU *et al.*, 2012), que atende parcialmente a demanda da cultura do milho; assim, o inoculante não substitui totalmente a fertilização com nitrogênio, mas promove uma melhor absorção e

utilização do N do solo (SAUBIDET; FATTA; BARNEIX, 2002). Para obter retorno econômico com a cultura, a suplementação de nitrogênio é imprescindível com uma dose de N que proporcione bom desenvolvimento da planta e não atrapalhe a fixação biológica de nitrogênio (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

No Brasil se consolidou o cultivo de milho em sucessão à soja, ou seja, no mesmo ano agrícola é possível colher duas safras na mesma área de cultivo, a safra de verão, ou primeira safra e a safra da seca, também conhecida como safrinha ou segunda safra. Essa é uma característica que vem desde a década de 80, mas foi consolidada em anos mais recentes. Na safra 1991/92, a área de milho segunda safra já correspondia a 10% da área de soja. Este percentual ultrapassou os 20% na safra 1998/99 e nas cinco safras referentes ao período de 2011/12 a 2015/16 permaneceu acima dos 30% da área cultivada com soja (CONAB, 2017). O incremento dessa segunda safra tem se tornado a principal fonte de suprimento do cereal (CONAB, 2018). Segundo dados da CONAB (2021), na safra 2019/20 a produção do milho segunda safra foi de 75.053,2 milhões de toneladas, com 34.608,8 milhões de toneladas produzidas no Estado de Mato Grosso.

Como o plantio da segunda safra do milho ocorre após a colheita da soja, período do ano que se encaminha para o final das chuvas, a disponibilidade hídrica é um dos fatores que pode afetar o potencial produtivo da cultura. No entanto, outra limitação de altas produtividades refere-se ao investimento financeiro aplicado pelo produtor, que é fortemente influenciado pelo mercado, projeções futuras do preço de venda e situação econômica do país (KAPPES, 2017).

Uma questão a ser elucidada em relação a inoculação e a coinoculação é referente a seu efeito residual para a cultura subsequente nos sistemas de sucessão (CÂNDIDO *et al.*, 2020) pois a inoculação de sementes de milho com *A. brasilense*, segundo Jordão *et al.* (2011), incrementa a produtividade do milho segunda safra através da fixação biológica de nitrogênio (FBN), e também pode contribuir para o balanço positivo de N, na sucessão.

Assim, objetivou-se avaliar a resposta dos teores foliares de macronutrientes na cultura do milho sob adubação nitrogenada de cobertura e efeito residual da coinoculação de *A. brasilense* na soja.

2 MATERIAIS E MÉTODO

Desenvolveu-se o experimento na área experimental da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Campus de Alta Floresta, com coordenadas geográficas 09° 51' 42" S e 56° 04' 07" W, e altitude de 283 metros. O clima predominante da região, segundo classificação de Köppen, é do tipo Am, com duas estações climáticas bem definidas. Apresenta precipitação média anual de 2.400 mm e a temperatura média anual é de 26 °C (EPE, 2009).

Os valores de precipitação pluvial, temperaturas máxima e mínima e umidade relativa do ar média durante o período do experimento em campo foram obtidos na estação meteorológica da Universidade do Estado de Mato Grosso, localizada na área experimental (Figura 1).

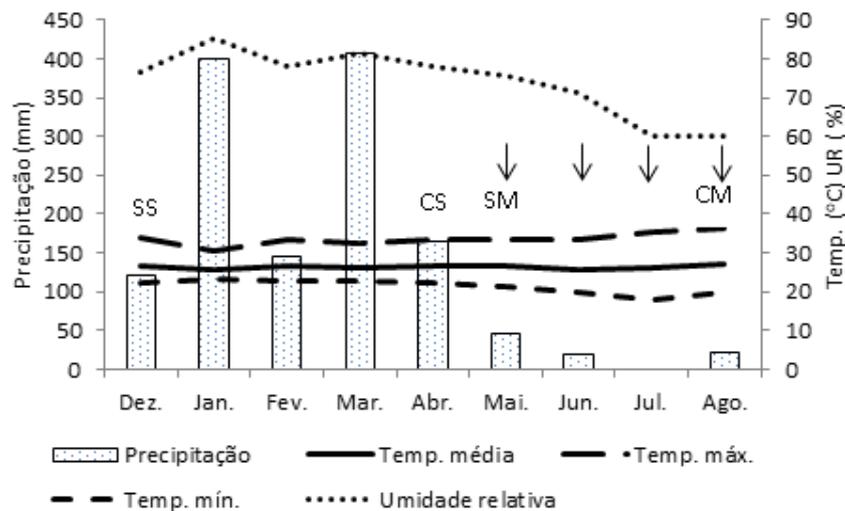


Figura 1. Médias mensais de temperatura máxima, mínima e média, umidade relativa do ar (UR) e precipitação pluvial mensal durante o período de dezembro de 2015 a agosto de 2016.

SS - semeadura da soja; CS - colheita da soja; SM - semeadura do milho; CM - colheita do milho.

- Meses irrigados com lâmina máxima: 7 mm dia⁻¹.

Anteriormente à instalação do experimento, a área vinha sendo cultivada com *Urochloa brizantha* cv Marandu. O solo é classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico (EMBRAPA, 2013), com os seguintes atributos: 23,0 g dm⁻³ de matéria orgânica; pH (CaCl₂) 5,22; 1,22 mg dm⁻³ de P (pelo extrator Mehlich 1); 0,29 cmol_c dm⁻³ de K; 2,19 cmol_c dm⁻³ de Ca; 0,98 cmol_c dm⁻³ de Mg; 0,00 cmol_c dm⁻³ de Al; 2,55 cmol_c dm⁻³ de H, CTC_{pH7} 6,01 cmol_c dm⁻³ e 57,6% de saturação por bases, 396 g kg⁻¹ de argila; 140 g kg⁻¹ de silte; e 464 g kg⁻¹ da fração areia (textura argilo-arenosa). Não houve a necessidade de realização de calagem devido a saturação por bases: 57,6% (NOVAIS, 1999).

Semeou-se a soja em 08 de dezembro de 2015, sendo utilizada a cultivar TMG 133 RR no espaçamento de 0,5 m entre linhas e população de 280.000 plantas ha⁻¹ e no delineamento experimental em blocos ao acaso com dois tratamentos, constituídos pela inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* com e sem a coinoculação com *Azospirillum brasilense*. A adubação de semeadura seguiu as recomendações de Novais (1999) aplicando-se 400 kg ha⁻¹ do formulado comercial 00:30:20. Momentos antes à semeadura foi realizada a inoculação com 80 g de Nitro Geo® (estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080) para 50 kg de sementes e a coinoculação com 80 g de Nitro Geo soja turfa® (estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080) para 50 kg de sementes + 100 mL de Nitro Geo AZ® (estirpes AbV5 e AbV6) para 25 kg de sementes (CÂNDIDO *et al.*, 2020).

A soja inoculada apresentou produtividade média de 2.785,9 kg ha⁻¹ e a soja coinoculada 2.910,6 kg ha⁻¹, sendo que essas médias não foram significativamente diferentes pelo teste F ($p < 0,05$) (CÂNDIDO *et al.*, 2020).

Os tratamentos para a cultura do milho foram constituídos pela combinação da inoculação residual de *B. japonicum* e a coinoculação também residual com *A. brasilense* na faixa (fator principal) aplicados nas sementes da soja e cinco doses de N (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹) aplicadas no milho segunda safra consorciado com *Urochloa ruziziensis* nas parcelas (fator secundário). Cada parcela foi constituída por 12 linhas de milho consorciado com forrageira, com sete metros de comprimento e espaçadas em 0,5 m entre si. Para área útil de cada parcela, foram consideradas as quatro linhas centrais, tendo como área útil de cada parcela 10 m².

O delineamento experimental para cultura do milho foi blocos ao acaso, no esquema fatorial com parcelas em faixas, com 10 tratamentos e 4 repetições. A área experimental total foi de 1.680 m², sendo que cada subparcela apresentava 6 m de largura por 7 m de comprimento, com um total de 40 subparcelas.

A semeadura do milho foi realizada em 14 de maio de 2016, logo após a colheita da soja, sobre a palhada da mesma. A cultivar de milho utilizada foi a 2B877 PW (híbrido simples), com população de 55.000 plantas ha⁻¹. A adubação de semeadura seguiu as recomendações de Alves *et al.* (1999), sendo aplicados 16 kg ha⁻¹ de N, 120 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 48 kg ha⁻¹ de K₂O, por meio do formulado 04-30-12. As sementes de milho não receberam nenhum outro tratamento.

O milho foi consorciado com a *Urochloa ruziziensis* (Syn. *Brachiaria ruziziensis*), sendo esta semeada simultaneamente com a cultura, na quantidade de 12 kg ha⁻¹. Para isso as sementes da forrageira foram misturadas ao adubo e depositadas no compartimento de fertilizante da semeadora, sendo distribuídas na mesma profundidade do adubo.

Em 06 de junho de 2016, quando a cultura do milho atingiu o estágio fenológico V6 (seis folhas totalmente desenvolvidas), se fez a adubação de cobertura, aplicando-se manualmente as doses de N de cada tratamento (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹), sendo utilizada como fonte de N a ureia (45% de N). A dose de N recomendada nessas condições é de 100 kg ha⁻¹ segundo Alves *et al.* (1999).

O milho foi conduzido sob sistema de irrigação por aspersão convencional, com fornecimento de água realizado de acordo com a necessidade hídrica da cultura, atingindo no máximo 7 mm dia⁻¹. Tal fornecimento foi necessário devido atipicamente ao regime de chuva no final do ano anterior ter sido insuficiente, o que acarretou um atraso na implantação da soja e conseqüentemente do milho.

Na cultura do milho foram realizadas três aplicações de inseticida, aos 10, 53 e 59 dias após a semeadura, utilizando tiametoxam + lambda-cialotrina como ingredientes ativos na primeira aplicação, lambda-cialotrina na segunda e metomil na terceira para controle de lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), e lagarta-da-espiga (*Helicoverpa zea*). Foram seguidas as recomendações do compêndio de defensivos agrícolas e bula dos produtos, sendo as aplicações realizadas com pulverizador costal motorizado aplicando-se um volume de 400 L ha⁻¹.

Realizou-se a colheita do milho em 24 de agosto de 2016 de forma manual, coletando-se as espigas das 4 linhas centrais, desprezando-se 1,0 m das extremidades. O milho com residual da inoculação apresentou produtividade média de 8.595,2 kg ha⁻¹ e o milho com residual da coinoculação 7.814,2 kg ha⁻¹, sendo que essas médias não foram significativamente diferentes pelo teste F (p < 0,05) (CÂNDIDO *et al.*, 2020).

Foi realizada amostragem de plantas para determinação do teor de N e demais nutrientes (P, K, Ca, Mg e S) em época de florescimento pleno, estágio R1 (aparecimento dos estilos-estigma nas espigas), sendo amostradas 10 plantas por parcela conforme Malavolta *et al.* (1997). Para cada amostra individual padronizou-se retirar a folha índice, que consistiu na 1ª folha fisiologicamente madura, oposta e abaixo da espiga.

As folhas amostradas foram acondicionadas em sacos de papel e secadas em estufa com circulação forçada com temperatura controlada de ar, a 65 °C, até massa constante. Posteriormente, foram moídas em moinho tipo Willey e armazenadas. O teor de N foliar foi determinado através da metodologia de Kjeldahl, que se baseia em três etapas: digestão, destilação e titulação (SILVA, 2009). A determinação de P, K, Ca, Mg e S foi realizada através da digestão nitro-perclórica e leitura através de espectroscopia de massa plasma acoplado indutivamente.

Com os dados obtidos de massa seca e teor de nitrogênio foram calculadas as eficiências e recuperação da utilização do N (Quadro 1).

Quadro 1. Variáveis e equações de eficiências e recuperação do N aplicado

Variável	Equação
Eficiência de utilização de nitrogênio: em (kg de MS) ² /g de N acumulado (SIDDIQI & GLASS, 1981). Massa seca total em kg e acúmulo de N em g.	$EUN = \frac{(massa\ seca\ total)^2}{(acúmulo\ de\ N)}$
Recuperação do nitrogênio aplicado: em % (FAGERIA, 1998). Acúmulo de N e dose de N aplicada em kg.	$RNA = \frac{(acúmulo\ de\ N\ com\ adubação - acúmulo\ de\ N\ sem\ adubação)}{dose\ de\ N \times 100}$
Eficiência agrônômica do N aplicado: em kg de MS/kg N aplicado (FAGERIA, 1998). Massa seca e dose de N em kg.	$EA = \frac{(massa\ seca\ com\ adubação - massa\ seca\ sem\ adubação)}{dose\ de\ N}$
Eficiência fisiológica ou eficiência biológica: em kg de MS/kg de N acumulado (FAGERIA, 1998). Massa seca e acúmulo de N em kg.	$EF = \frac{(massa\ seca\ com\ adubação - massa\ seca\ sem\ adubação)}{acúmulo\ de\ N\ com\ adubação - acúmulo\ de\ N\ sem\ adubação}$

Na área sob resíduo da inoculação a média da massa seca da parte aérea do milho foi de 159.08 g pl⁻¹ e na área sob resíduo da coinoculação foi de 160.05 g pl⁻¹. Quanto as doses de N (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹), a massa seca foi 149.95, 155.92, 159.09, 160.11 e 175.76 g pl⁻¹ respectivamente (CÂNDIDO *et al.*, 2020). Tanto para resíduo e doses, quanto na interação entre eles, não houve diferença estatística pelo teste F (p < 0,05) para essa variável.

Os dados de todas as avaliações foram submetidos à análise de variância, sendo que as médias do fator qualitativo (inoculação) foram comparadas pelo teste F (p < 0,05) e para o fator quantitativo (doses de N) foi realizado o estudo de regressão polinomial, com auxílio do *software* Sisvar (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados referentes aos teores de N, bem como sua relação de eficiência de utilização, recuperação do nitrogênio aplicado, eficiência agrônômica e eficiência fisiológica podem ser encontrados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Teor de nitrogênio na planta (N), eficiência de utilização do nitrogênio (EUN), recuperação do nitrogênio aplicado (RNA), eficiência agrônômica (EA) e eficiência fisiológica (EF) no milho, influenciados por doses de nitrogênio e resíduo de inoculação e coinoculação. Alta Floresta (MT), Brasil, 2016

Fonte de variação	N	EUN	RNA	EA	EF
	g kg ⁻¹	kg de MS g ⁻¹	%	kg MS kg N ⁻¹	kg MS kg N ⁻¹
Inoculação	23,03*	1,25 ^{ns}	1,29 ^{ns}	1,14 ^{ns}	0,77 ^{ns}
Dose de N	160,82**	0,36 ^{ns}	1,46 ^{ns}	0,82 ^{ns}	1,04 ^{ns}
IxN	2,34 ^{ns}	3,94*	1,17 ^{ns}	1,62 ^{ns}	2,38 ^{ns}
CV 1 (%)	1,07	9,85	29,41	56,80	31,80
CV 2 (%)	1,76	13,42	23,95	44,40	24,93
CV 3 (%)	1,57	8,05	17,14	25,99	14,18
Média geral	25,52	504,29	28,57	4,14	4,43

^{ns}, **, * Não significativo, significativo a 1% e significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Valores de F e coeficiente de variação (CV%).

Tabela 2. Eficiência de utilização do nitrogênio do milho (EUN) influenciada por doses de nitrogênio e resíduo de inoculação e coinoculação. Alta Floresta (MT), Brasil, 2016

INOCULAÇÃO	DOSES DE N (kg ha ⁻¹)				
	0	50	100	150	200
	EUN (kg de MS g ⁻¹)				
B	460,60 a	468,13 a	520,97 a	474,48 a	553,34 a
B+A	516,75 a	527,19 a	526,07 a	519,79 a	476,57 b
DMS			62,53		
Interação IxD					
D(B) Reg. Linear			0,01*		
D(B) Reg. Quad.			0,58*		
D(B+A) Reg. Linear			0,19 ^{ns}		
D(B+A) Reg. Quad.			0,16 ^{ns}		

^{ns}, * Não significante, significante a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Valores de F para regressão e diferença mínima significativa (DMS). B = *Bradyrhizobium japonicum*; A = *Azospirillum brasilense*.

O aumento do teor do nitrogênio na planta ocorreu de forma linear crescente (Figura 2a), com incremento de 0,25 g kg⁻¹ no teor de N para cada incremento de 10 kg ha⁻¹ de N. Mota *et al.*, 2015, avaliando fontes estabilizadas de N como alternativa para aumentar o rendimento de grãos e a eficiência de uso do nitrogênio pelo milho, encontravam resultados semelhantes, onde o teor percentual de N na folha-índice do milho foi influenciado significativamente pela dose de N, aumentando linearmente com o incremento na quantidade de N aplicada em cobertura. Ocorreram diferenças de acordo com o tratamento de inoculação aplicado, onde, na área que ocorreu somente a inoculação o teor médio de N foi 25,31 g kg⁻¹ e em relação à área onde houve a coinoculação, a qual apresentou teor médio de 25,73 g kg⁻¹.

Gavilanes *et al.* (2020) demonstraram em seu estudo que a coinoculação com *A. brasilense* aumentou os valores de N e P foliar, com maiores efeitos quando dois micro-organismos são combinados. Araújo *et al.* (2015), avaliando o estado nutricional de milho sob várias aplicações de N e inoculação com bactérias diazotróficas, notaram que os níveis de N nas folhas foram afetados positivamente pela fertilização com nitrogênio e inoculação de sementes. Galindo *et al.* (2016) relataram que a inoculação com *A. brasilense* aumentou os níveis de N e P em folhas de trigo e milho, assim como os resultados obtidos nesse estudo.

A EUN não diferiu entre inoculação e coinoculação nas doses até 150 kg ha⁻¹, já na dose 200 kg ha⁻¹ houve diferença significativa, onde os valores de inoculação foram mais altos em comparação com a coinoculação, além disso, nota-se uma tendência crescente da eficiência de acordo com a dose de N aplicada até a dose analisada de 100 kg ha⁻¹ (Figura 2b). Roesch *et al.* (2006) verificaram que a colonização de plantas de milho por bactérias diazotróficas foi inibida por altas doses de N, como aconteceu na presente pesquisa na dose de 200 kg ha⁻¹ de N. Segundo Roesch *et al.* (2006), isso ocorreu porque o N mineral alterou o estado fisiológico da planta e, por consequência, a sua associação às bactérias diazotróficas.

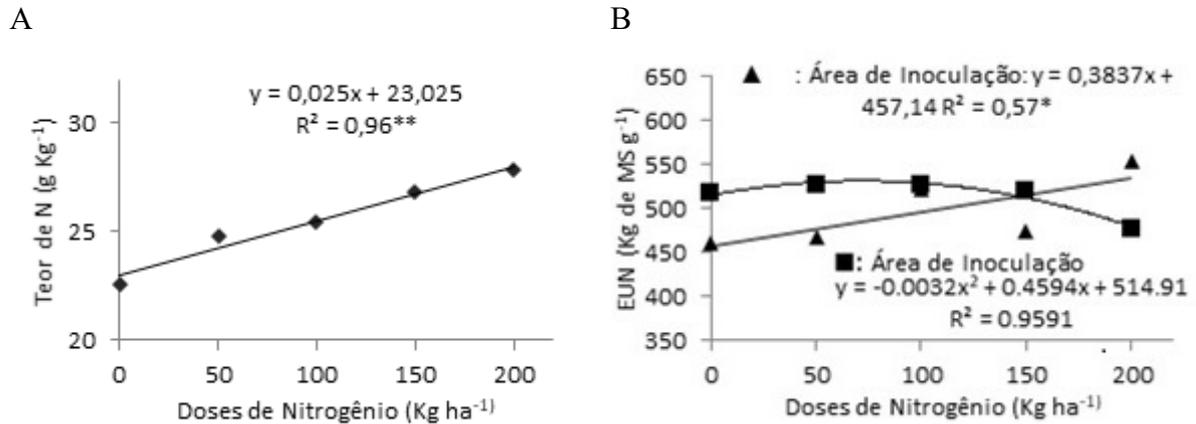


Figura 2. Teor de nitrogênio (a) e eficiência de utilização do nitrogênio (b) na planta do milho em função das doses de nitrogênio aplicadas.

Na área sob coinoculação, pela equação quadrática, observa-se que nas doses menores, a EUN é maior para a área sob sucessão da coinoculação com *A. brasilense* na soja. O resíduo de *A. brasilense* na soja pode aumentar a EUN do milho e reduzir a demanda de N mineral pela cultura nessas condições. Sabe-se que o N é o nutriente mineral que exerce maior influência na produtividade de grãos e também o que mais onera o custo de produção (SILVA *et al.*, 2005). Além da necessidade de reduzir custos com adubação nitrogenada, existe a preocupação com a poluição dos recursos hídricos e da atmosfera causados pelo uso inadequado de fertilizantes nitrogenados, em virtude da instabilidade desse nutriente, o que pode deixá-lo sujeito a perdas por erosão, lixiviação, volatilização e desnitrificação (LARA CABEZAS *et al.*, 2000). Assim, a busca por sistemas que podem funcionar com maior eficiência de utilização de nutrientes e sustentabilidade são almejados.

Para Prasanna *et al.* (2016) o uso de inoculantes contribui para a absorção de macro e micronutrientes, favorecendo comunidades microbianas na rizosfera de híbridos de milho, promovendo uma economia significativa de fertilizante químico. Longhini *et al.* (2016), em estudo sobre inoculação de milho com *A. brasilense*, mencionaram aumento no teor de N, P e K nas folhas, reduzindo a necessidade de fertilizantes químicos.

Para os demais cálculos referentes à aplicação de N: recuperação do N aplicado, eficiência agrônômica e eficiência fisiológica, não houve resposta significativa tanto para doses de N e residual de inoculação, quanto para interação entre esses fatores estudados. Sangoi *et al.* (2015), em estudo referente ao desempenho agrônômico do milho em razão do tratamento de sementes com *Azospirillum* sp. e da aplicação de doses de N mineral, não constataram benefícios consistentes da inoculação das sementes com estirpes de *A. brasilense* no rendimento de grãos e na eficiência agrônômica do N do milho, indicando segundo eles que essa tecnologia não está consolidada como estratégia de manejo para melhorar o desempenho agrônômico da cultura no Brasil e que mais estudos precisam ser desenvolvidos.

Mota *et al.* (2015) estudando fontes estabilizadas de nitrogênio como alternativa para aumentar o rendimento de grãos e a eficiência de uso do nitrogênio pelo milho relataram que a EA não foi influenciada pela progressão de doses de N em cobertura em segundo ano de cultivo. Para Duarte *et al.* (2012), os efeitos da adubação nitrogenada e da inoculação com *Azospirillum* sp. na nutrição e produtividade do milho dependem da cultivar utilizada e das condições edafoclimáticas vigentes. Influências geográficas e ambientais podem gerar associações diferentes entre bactérias diazotróficas endofíticas e plantas de milho, ocasionando resultados bastante variáveis em relação à inoculação (ROESCH *et al.*, 2006).

Quanto aos demais nutrientes quantificados, houve interação entre os fatores inoculação e doses de N para P, Ca e Mg e efeito de dose de N para K e S (Tabela 3).

Tabela 3. Valores de F, coeficiente de variação (CV%) e valores médios nas plantas para teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) em função de doses de nitrogênio e resíduo de inoculação e coinoculação para plantas de milho. Alta Floresta (MT), 2016

Fonte de variação	P	K	Ca	Mg	S
	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹
Valores de F					
Inoculação	14,05 [*]	0,91 ^{ns}	5,48 ^{ns}	296,78 ^{**}	1,79 ^{ns}
Dose de N	0,33 ^{ns}	22,46 ^{**}	43,80 ^{**}	182,93 ^{**}	5,67 ^{**}
IxN	7,63 ^{**}	2,02 ^{ns}	18,23 ^{**}	12,44 ^{**}	0,76 ^{ns}
CV 1 (%)	8,72	1,43	3,21	0,86	9,11
CV 2 (%)	11,20	1,50	1,83	1,06	14,54
CV 3 (%)	6,12	2,54	2,36	1,30	17,77
Média geral	1,76	23,13	1,32	3,37	1,40

^{ns}, ^{**}, ^{*} Não significante, significante a 1% e significante a 5% de probabilidade pelo teste F.

O desdobramento da interação significativa para P, Ca e Mg está apresentado na Tabela 4. Ao analisar o teor de nutrientes na parte aérea das plantas de milho, observou-se que na ausência de doses e nas doses de 150 e 200 kg ha⁻¹ de N, o teor de P foi influenciado positivamente pelo residual da coinoculação, porém, na resposta observada pela análise de regressão não ocorreu padronização dos teores. Araújo *et al.* (2015) notaram que os níveis de P nas folhas foram afetados positivamente pela inoculação de sementes com *A. brasilense*, assim como os resultados obtidos no resíduo da inoculação nesse estudo.

Tabela 4. Teores de fósforo (P), cálcio (Ca) e magnésio (S) em função da inoculação e de doses de nitrogênio nas plantas de milho

(Continua)

INOCULAÇÃO	DOSES DE N (kg ha ⁻¹)				
	0	50	100	150	200
P (g kg ⁻¹)					
B	1,57 b	1,89 a	1,69 a	1,68 b	1,51 b
B+A	1,90 a	1,75 a	1,82 a	1,87 a	1,91 a
CV(%)	6,12				
Interação IxD					
D(B) Reg. Linear			3,69 ^{ns}		
D(B) Reg. Quad.			15,05 ^{**}	0,72 ^{ns}	
D(B+A) Reg. Linear			3,27 ^{ns}		
D(B+A) Reg. Quad.					
Ca (g kg ⁻¹)					
B	1,46 a	1,28 b	1,30 a	1,30 b	1,19 b

						(Conclusão)
B+A	1,35 b	1,39 a	1,30 a	1,35 a	1,30 a	
CV(%)						2,36
Interação IxD						
D(B) Reg. Linear						106,44**
D(B) Reg. Quad.						5,39 *
D(B+A) Reg. Linear						6,52*
D(B+A) Reg. Quad.						0,69 ^{ns}
						Mg (g kg ⁻¹)
B	3,52 b	3,22 b	3,12 b	3,40 b	3,23 a	
B+A	3,66 a	3,54 a	3,23 a	3,57 a	3,26 a	
CV(%)						1,30
Interação IxD						
D(B) Reg. Linear						34,27**
D(B) Reg. Quad.						58,98**
D(B+A) Reg. Linear						128,00**
D(B+A) Reg. Quad.						10,15**

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ^{ns}, **, * Não significativo, significativo a 1% e significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. B = *Bradyrhizobium japonicum*; A = *Azospirillum brasilense*.

Para a maioria das doses de N aplicadas (50, 150 e 200 kg ha⁻¹), o resíduo da coinoculação causou aumento nos teores foliares de Ca, o mesmo ocorreu para os teores foliares de Mg nas aplicações de 0, 50, 100 e 150 kg ha⁻¹ de N.

Enquanto o Ca e o Mg apresentaram tendência quadrática com ponto de mínimo conforme se aumentou as doses de N na área de inoculação, o P apresentou tendência quadrática com ponto de máximo (Figura 3). O maior teor de P foi proporcionado pela dose de 86,4 kg ha⁻¹ de N e corresponde a um teor de 1,8 g kg⁻¹ de P. O Ca e Mg são absorvidos por fluxo de massa, enquanto P por difusão. Essa e outras particularidades quanto à absorção desses nutrientes como fatores externos e especificidades quanto à absorção dos nutrientes podem explicar a resposta diferente nos teores destes.

Segundo Malavolta (2006), as adições de N geralmente elevam o conteúdo de Ca nas folhas, a menos que haja um forte aumento deste elemento na matéria seca, o que causa diminuição aparente de Ca. Ainda assim, de acordo para o mesmo autor, macieiras fertilizadas com fosfato monoamônio demonstram menor conteúdo foliar de Ca relativo a plantas fertilizadas com sulfato de amônio. Este efeito é parcialmente devido às mudanças de pH do substrato. Assim, o Ca foliar diminui na presença de amônia nitrogênio porque a ureia é biologicamente convertida para a forma amoniacal (KAMOWAGA *et al.*, 2000).

As condições climáticas durante o experimento podem ter afetado esses resultados. Dados de precipitação durante o experimento (Figura 1) registrados por uma estação meteorológica automática localizada na área experimental mostra uma distribuição insatisfatória de chuva, o que foi almejado corrigir através da irrigação por aspersão. O fluxo de massa é um processo importante para a absorção de Ca e Mg. Durante a seca, a absorção de Ca e Mg é limitada pela quantidade desses nutrientes que atingem as raízes, o que pode não ser suficiente para atender a demanda da planta mesmo sob alta concentração de N no solo (ERNANI, 2003).

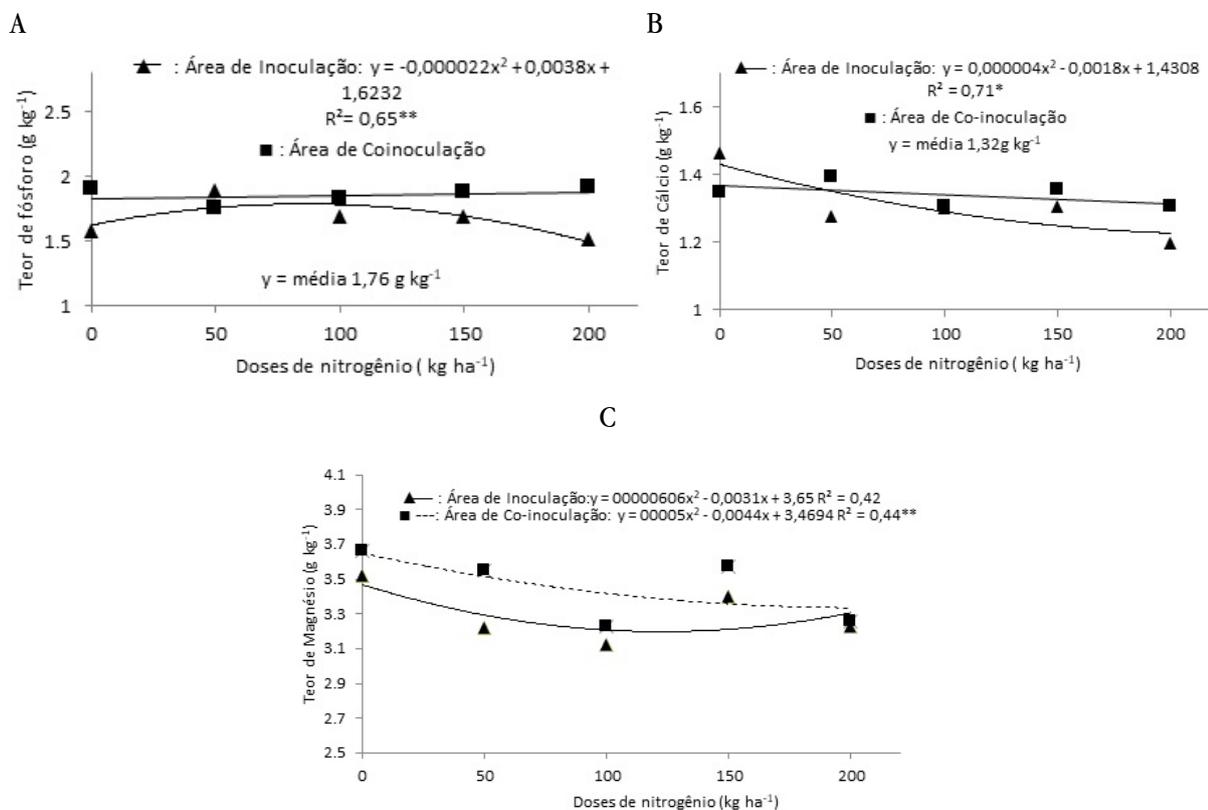


Figura 3. Teor de fósforo nas plantas (a), teor de cálcio (b) e teor de magnésio (c) de milho em função da inoculação e coinoculação e das doses de nitrogênio aplicadas.

Na Tabela 5 e Figura 4, observa-se a resposta quanto aos teores de K e S em função das doses de N aplicadas. Semelhantemente aos nutrientes anteriormente citados, esses também não seguiram a mesma tendência conforme o incremento da dose de N.

Tabela 5. Teores potássio (K) e enxofre (S) em função da inoculação e coinoculação e doses de N para cultura do milho. Alta Floresta (MT), 2016

INOCULAÇÃO	K	S
	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹
B	23,18 a	1,37 a
B+A	23,08 a	1,43 a
DMS	0,33	0,13
DOSES N (kg ha ⁻¹)		
0	23,89	1,10
50	22,91	1,49
100	23,56	1,46
150	22,79	1,42
200	22,49	1,55
F Regressão linear	53,34**	12,62**
F Regressão quad.	--	--

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ** Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Valores de F para regressão, diferença mínima significativa (DMS). B = *Bradyrhizobium japonicum*; A = *Azospirillum brasilense*.

Os teores de K decresceram linearmente com o aumento da dose de N (Figura 4a), diferentemente dos resultados obtidos por Arnon (1975), que relata incremento nos teores foliares de K no milho à medida que as doses de N aumentaram. Já Casagrande e Fornasieri Filho (2002) não constataram efeito de doses e de épocas de aplicação de N no teor de K no milho. Ainda, em estudo realizado por Batista e Monteiro (2010), a fertilização com N afetou negativamente a proporção de K na parte aérea de capim-marandu.

Segundo o IPA (2008), o teor de K no tecido foliar de plantas de milho considerado adequado deve estar entre 17,5 e 22,5 g kg⁻¹. Assim, infere-se que o conteúdo desse nutriente no tecido foliar das plantas cultivadas neste experimento foi superior, tanto em área com residual de inoculação como coinoculação, aos considerados adequados, evidenciando o satisfatório suprimento de K proveniente do solo.

Níveis satisfatórios de K em presença de inoculantes foram constatados por Oliveira *et al.* (2008) e, segundo os autores, isso pode estar relacionado à síntese de fitohormônios por essas bactérias, que estimulam o crescimento de raízes finas das plantas, e consequentemente aumentar a água e nutrientes capacidade de absorção.

Para o enxofre (Figura 4b), houve crescimento linear conforme o incremento de N, assemelhando-se ao comportamento observado para os teores de N na planta.

Vasconcelos *et al.* (2016), estudando inoculação de sementes com *A. brasilense* e fertilização com N do milho no bioma Cerrado, não encontraram correlação positiva entre as doses de N e a presença ou ausência de *A. brasilense* no teor foliar de S, como também foi constatado no presente estudo.

O enxofre está ligado ao metabolismo do N, encontra-se em maior parte nas proteínas e converte o N não proteico em proteína. Enxofre e N são constituintes dos aminoácidos cistina, cisteína e metionina contidos nas proteínas. O teor de N é quinze vezes maior em relação ao teor de enxofre, contudo, o enxofre estimula o crescimento vegetativo.

Resultados experimentais obtidos por vários autores, sob diversas condições de clima, solo e sistemas de cultivo, mostram respostas generalizadas do milho à adubação nitrogenada; cerca de 70% a 90% dos ensaios de adubação com milho, realizados em campo, no Brasil, são responsivos à aplicação de nitrogênio (CRUZ *et al.*, 2005). Entretanto, ressalta-se que a eficiência da adubação depende, dentre outros fatores, das condições climáticas, do tipo de solo e da capacidade de extração de nutrientes pelas plantas, durante o cultivo (NEUMANN *et al.*, 2005).

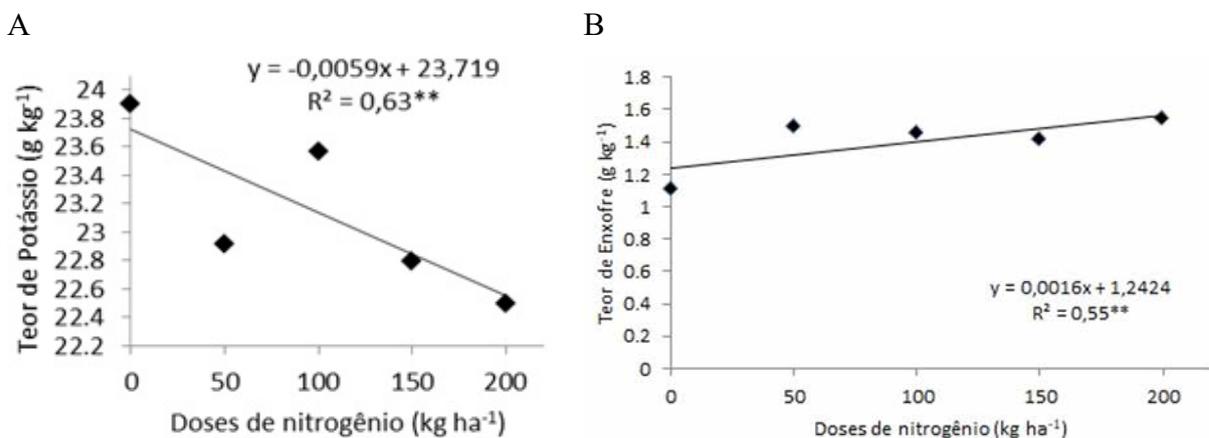


Figura 4. Teor de potássio (a) e teor de enxofre (b) nas plantas de milho em função das doses de nitrogênio aplicadas.

Cândido *et al.* (2020) observaram efeito individual dos fatores coinoculação e doses de N e interação entre os mesmos em área de resíduo da coinoculação de *A. brasilense* na soja para massa seca de raiz e volume de raiz de milho. Estudos demonstram que os efeitos proporcionados pelo *A. brasilense* são derivados de alterações morfológicas e fisiológicas nas raízes de plantas inoculadas, acarretando incremento na absorção de água e nutrientes (SABUNDJIAN, 2016), o que explica maior absorção para P e Mg por exemplo. A fisiologia do milho, na questão de nutrição, é melhorada em função do efeito residual do *A. brasilense* aplicado na soja e que, em condições sem irrigação na segunda safra ou um satisfatório regime de chuvas, pode incrementar a produtividade do milho.

4 CONCLUSÃO

A coinoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense* na cultura da soja se destacou na maioria das variáveis nutricionais estudadas no resíduo da coinoculação para a cultura do milho, o que demonstra o alto potencial de uso de *A. brasilense* para melhor desenvolvimento e produção da cultura do milho.

O efeito residual da aplicação de *A. brasilense* na soja promove melhorias na nutrição do milho, incrementando os teores de alguns macronutrientes e aumentando a eficiência de utilização no N em menores doses de N aplicado, o que pode reduzir a quantidade de aplicação do N mineral e consequentemente aumentar a rentabilidade.

A coinoculação residual com *A. brasilense* na soja promove melhorias na fisiologia do milho cultivado em sucessão, gerando plantas com maior potencial produtivo e com maior potencial de tolerância a estresses.

5 AGRADECIMENTOS

À FAPEMAT pela concessão da bolsa de estudos ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

ALVES, V. M. C.; VASCONCELLOS, C. A.; FREIRE, F. M.; PITTA, G. V. E.; FRANÇA, G. E.; FILHO, A. R.; ARAÚJO, J. M.; VIEIRA, J. R.; LOUREIRO, J. E. Milho. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. V. H. **Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª Aproximação**. Viçosa: CFSEMG/UFV, 1999. p. 281-282.

ARAÚJO, E. O.; MERCANTE, F. M.; VITORINO, A. C. T. Effect of nitrogen fertilization associated with inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* on corn. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, p. 137-145, 2015.

ARNON, I. **Mineral nutrition of maize**. Bern: International Potash Institute, 1975. 452p.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. Como a bactéria *Azospirillum*, que promove o crescimento das plantas: uma avaliação crítica. **Advances in Agronomy**, v. 108, p. 77-136, 2010.

CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. (org.). **Anais da XIII Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE)**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 35p. (Embrapa Soja. Documentos, 350).

CÂNDIDO, A. C. T. F.; CARVALHO, M. A. C.; FELITO, R. A.; ROCHA, A. M.; YAMASHITA, O. M. Nitrogen rates and residual effect of co-inoculation of soybean on maize plants. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 33, n. 3, p. 633-643, 2020.

CASAGRANDE, J. R. R.; FORNASIERI FILHO, D. Adubação nitrogenada na cultura do milho safrinha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 1, p. 33-40, 2002.

CHUBATSU, L. S.; MONTEIRO, R. A.; SOUZA, E. M.; OLIVEIRA, M.; YATES, M. G.; WASSEM, R.; PEDROSA, F. O. Controle da fixação de nitrogênio em *Herbaspirillum seropedicae*. **Plant and Soil**, v. 356, n. 1-2, p. 197-207, 2012.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos, Safra 2017/18**: décimo segundo levantamento. Brasília, v. 5, n. 12, 2018. p. 1-148.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Compêndio de Estudos Conab**. v. 10, Brasília: Conab. p. 1-35. 2017. Disponível em: https://www.conab.gov.br/uploads/arquivos/17_08_02_14_27_28_10_compendio_de_estudos_conab_a_produtividade_da_soja_-_analise_e_perspectivas_-_volume_10_2017.pdf. Acesso em: 02 fev. 2021.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: safra 2019/20: série histórica das safras**. Brasília: Conab, 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras?start=20>. Acesso em: 10 jan. 2021.

CRUZ, J. C.; PEREIRA, F. T. F. P.; PEREIRA FILHO, I. A.; COELHO, A. M. **Resposta de cultivares de milho à adubação nitrogenada em cobertura**. Sete Lagoas: EMBRAPA. Dezembro, 2005. p. 65 (Comunicado Técnico 116).

DEAKER, R.; ROUGHLEY, R. J.; KENNEDY, I. R. Legume seed inoculation technology - a review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, p. 1275-1288, 2004.

DUARTE, A. P.; PIEDADE, R. C.; MARTINS, V. C.; CANTARELLA, H.; BARROS, V. L. N. P. Resposta de cultivares de milho ao nitrogênio em cobertura e à inoculação com *Azospirillum*. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, ÁGUAS DE LINDÓIA, 29., **Anais** [...]. Campinas: Instituto Agrônômico, 2012. p. 1786-92.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3ª ed. Brasília: Embrapa, 2013. 353p.

EPE - Empresa de Pesquisa Energética. **Avaliação ambiental integrada da bacia hidrográfica do Rio Teles Pires**. 2009. Disponível em: <http://www.epe.gov.br/MeioAmbiente/Documents/AAI%20Teles%20Pires/AAI%20Teles%20Pires%20-%20Relat%C3%B3rio%20Final.pdf>. Acesso em: 01 abr. 2020.

ERNANI, P. R. **Disponibilidade de nitrogênio e adubação nitrogenada para a macieira**. Lages: Graphel, 2003. 76p.

FAGERIA, N. K. Otimização da eficiência nutricional na produção das culturas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 1, p. 6-16, 1998.

FERREIRA, D. F.; SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011. DOI: 10.1590/S1413-70542011000600001.

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZZETTI, S.; SANTINI, J. M. K.; ALVES, C. J.; NOGUEIRA, L. M.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTTE, J. L. M. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, 2016.

GAVILANES, F. Z.; ANDRADE, D. S.; ZUCARELI, C.; HORÁCIO, E. H.; YUNES, J. S.; BARBOSA, A. P.; ALVES, L. A. R.; CRUZATTI, L. G.; MADDELA, N. R.; GUIMARÃES, M. F. Co-inoculation of *Anabaena cylindrica* with *Azospirillum brasilense* increases maize grain yield. **Rhizosphere**, v. 15, p. 1-29, 2020.

IPA - Instituto Agrônomo de Pernambuco. **Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco**. Recife: IPA, 2008. 64p.

JORDÃO, L. T.; MUNIZ, A. S.; OLIVEIRA JUNIOR, A.; CASTRO, C.; JORDÃO, L. A. Inoculação de *Azospirillum brasilense* nas sementes aumenta a produtividade do milho, economiza fertilizante e beneficia o meio ambiente. **Cultivar Grandes Culturas**, v. 144, p. 16-18, 2011.

KAMOWAGA, M. Y.; NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B.; FERREIRA, E. C.; SILVA, F. V. Determinação direta de nitrogênio amoniacal do solo utilizando sistema de injeção sequencial com pervaporação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 23., Poços de Caldas. **Anais [...]**. Poços de Caldas: SBQ. 2020. 3p.

KAPPES, C.; SILVA, R. G.; FERREIRA, V. E. N. Aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura no milho safrinha. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 16, p. 366-373, 2017.

KRUASUWAN, W.; THAMCHAIPENET, A. Diversity of culturable plant growth-promoting bacterial endophytes associated with sugarcane roots and their effect of growth by coinoculation of diazotrophs and actinomycetes. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 35, n. 4, p. 1074-1087, 2016.

LARA CABEZAS, W. A. R.; TRIVELIN, P. C. O.; KONDORFER, G. H.; PEREIRA, S. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto no Triângulo Mineiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 2, p. 363-376, 2000.

LONGHINI, V. Z.; SOUZA, W. C. R.; ANDREOTTI, M.; SOARES, N. A.; COSTA, N. R.; Inoculation of diazotrophic bacteria and nitrogen fertilization in topdressing in irrigated corn. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 2, p. 338-347, 2016.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafós, 1997. p. 115-230.

MOTA, M. R.; SANGOI, L.; SCHENATTO, D. E.; GIORDANI, W.; BONIATTI, C. M.; DALL'IGNA, L. Fontes estabilizadas de nitrogênio como alternativa para aumentar o rendimento de grãos e a eficiência de uso do nitrogênio pelo milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, n. 2, p. 512-522, 2015.

MULLER, T. M.; MARTIN, T. N.; CUNHA, V. S.; MUNARETO, J. D.; CONCEIÇÃO, G. M.; STECCA, J. D. L. Genetic bases of corn inoculated with *Azospirillum brasilense* via seed and foliar application. **Acta Scientiarum Agronomia**, Maringá, v. 43, e48130, p. 1-10, 2021.

NEUMANN, M.; SNDINI, I. E.; LUSTOSA, S. B. C.; OST, P. R.; ROMANO, M. A.; FALBO, M. K.; PANSERA, E. R. Rendimentos e componentes de produção da planta de milho (*Zea mays* L.) para silagem, em função de níveis de adubação nitrogenada em cobertura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 3, p. 418-427, 2005.

NOVAIS, R. F. Soja. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. V. H. **Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª Aproximação**. Viçosa: CFSEMG/UFV, 1999. p. 290-291.

OLIVEIRA, A. P.; SILVA, V. R.; ARRUDA, F. P.; NASCIMENTO, I. S.; ALVES, A. U. Rendimentos de feijão caupi em função de doses e formas de aplicação de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 77-80, 2003.

OLIVEIRA, J. P.; SILVA, M. L. R. B.; LIRA, M. C. C. P.; BURITY, H. A. Fixação do N₂ associativa e em vida livre. In: FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S. (ed.). **Microorganismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura**. Guaíba: Agrolivros, 2008. p. 97-118.

PRASANNA, R.; KANCHAN, A.; RAMAKRISHNAN, B.; RANJAN, K.; VENKATACHALAM, S.; HOSSAIN, F.; SHIVAY, Y. S.; KRISHNAN, P.; NAIN, L. Cyanobacteria-based bioinoculants influence growth and yields by modulating the microbial communities favourably in the rhizospheres of maize hybrids. **European Journal of Soil Biology**, v. 75, p. 15-23, 2016.

ROESCH, L. F. W.; OLIVARES, F. L.; PASSAGLIA, L. P. M.; SELBACH, P. A.; SÁ, E. L. S.; CAMARGO, F. A. O. Characterization of diazotrophic bacteria associated with maize: effect of plant genotype, ontogeny and nitrogen-supply. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v. 22, p. 967-74, 2006.

SABUNDJIAN, M. T.; ARF, O.; MEIRELLES, F. C.; NASCIMENTO, V.; KANEKO, F. H.; TARUMOTO, M. B. Adubação nitrogenada no desempenho agrônômico do feijoeiro de inverno em sucessão a gramíneas de verão. **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 59, p. 152-161, 2016.

SAUBIDET, M. I.; FATTA, N.; BARNEIX, A. J. Efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* no crescimento e na utilização de nitrogênio por plantas de trigo. **Plant and Soil**, v. 245, n. 2, p. 215-222, 2002.

SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 4, n. 3, p. 289-302, 1981.

SILVA, F. C. (ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 627p., 2009.

SILVA, E. D.; BUZETTI, S.; LAZARINI, E. Aspectos econômicos da adubação nitrogenada na cultura do milho em sistema de plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 4, n. 2, p. 86-97, 2005.

THOMAZINI, G.; REICHEMBAK, M. P.; ARF, O.; GERLACH, G. A. X.; SALATIER, B.; RODRIGUES, R. A. F. Inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio mineral em milho cultivado em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 18, n. 3, p. 396-407, 2019.

TOMASI, N.; MONTE, R.; VARANINI, Z.; CESCO, S.; PINTON, R.; Induction of nitrate uptake in Sauvignon Blanc and Chardonnay grapevines depends on the scion and is affected by the rootstock. **Australian Journal of Grape and Wine**, v. 21, p. 331-338, 2015.

VASCONCELOS, A. C. P.; SIQUEIRA, T. P.; LANA, R. M. Q.; FARIA, M. V.; NUNES, A. A.; LANA, A. M. Q. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and N fertilization of corn in the Cerrado Biome. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n. 5, p. 732-740, 2016.

YEGORENKOVA, I. V.; TREGUBOVA, K. V.; BURYGIN, G. L.; MATORA, L. Y.; IGNATOV, V. V. Assessing the efficacy of co-inoculation of wheat seedlings with the associative bacteria *Paenibacillus polymyxa* and *Azospirillum brasilense* Sp. **Canadian journal of microbiology**, v. 62, n. 3, p. 279-285, 2016.