

Efeito do nitrogênio e *Azospirillum Brasilense* em teores de proteína do milho na entressafra

Effect of nitrogen and Azospirillum Brasilense on the between-harvest corn protein

Bruna De Pádua Marcolini¹, Weder Ferreira dos Santos², Vanderlan Carneiro Dias³, Flávio Sérgio Afférr⁴, Clóvis Maurílio de Souza⁵, Joênes Mucci Pelúzio⁶

RESUMO: Considerando a importância econômica da cultura do milho (*Zea mays* L.) para o Estado do Tocantins e a escassez de estudos sobre o efeito da adubação nitrogenada e da utilização de bactérias do gênero *Azospirillum*, para a fixação biológica de nitrogênio, trabalhos de pesquisas são necessários. Neste sentido, o presente estudo foi realizado com o objetivo de se avaliar o efeito da adubação nitrogenada, associada ou não à bactéria *Azospirillum brasiliense*, no teor de proteína dos grãos de milho, na entressafra 2015, em Palmas (TO). Foram conduzidos dois ensaios no delineamento experimental utilizado de blocos casualizados com 30 tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram dispostos em um esquema fatorial 2x3x5, representado por dois processos de inoculação das sementes no sulco no momento da semeadura com *Azospirillum brasiliense*, três cultivares de milho e cinco doses de N realizadas em cobertura. O teor de proteína nos grãos foi obtido segundo o método de Kjeldahl. Temperaturas menores durante a fase vegetativa favoreceram o acúmulo de proteína nos grãos. O híbrido AG 1051 apresentou um maior incremento no teor de proteína nos grãos em função de doses de N na ausência do *Azospirillum brasiliense*. A variedade Al Bandeirante, em virtude de sua rusticidade, apresentou um maior conteúdo proteico nos grãos sob baixa disponibilidade de N na presença ou ausência do *Azospirillum brasiliense*. A inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasiliense* poderá ser uma alternativa viável na redução do uso de fertilizantes nitrogenados.

Palavras-chave: Fixação Biológica. Teor proteico. *Zea mays* L.

ABSTRACT: Specialized research works are required due to the economic importance of corn (*Zea mays* L.) for the state of Tocantins and lack of studies on the effect of nitrogen fertilization and the use of *Azospirillum* bacteria for the biological fixation of nitrogen. Current analysis evaluated the effect of nitrogen fertilization associated or not associated with *Azospirillum brasiliense* in protein rates of corn in the 2015 off-season harvest in Palmas TO Brazil. Two assays featuring randomized blocks with thirty treatments and three replications were conducted. Treatments comprised a factorial scheme 2x3x5, namely, two inoculation processes of seeds in planting with *Azospirillum brasiliense*, three corn cultivars and five N doses on covering. Protein rates in grains were obtained following method by Kjeldahl. Lower temperatures during the vegetative phase favored the accumulation of protein the grain. Hybrid AG 1051 showed highest protein increase in the grains due to N doses in the absence of *Azospirillum brasiliense*. Due to its rusticity, the variety Al Bandeirante had the highest protein contents in grains under low N availability with or without *Azospirillum brasiliense*. Inoculation of corn seeds with *Azospirillum brasiliense* may be an alternative in the decrease of nitrogen fertilizers.

Keywords: Biological fixation. Protein rate. *Zea mays* L.

Autor correspondente:

Weder Santos: eng.agricola.weder@gmail.com

Recebido em: 22/06/2020

Aceito em: 23/03/2021

¹ Mestre em Agroenergia pela Universidade Federal do Tocantins (UFT), Palmas (TO), Brasil.

² Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia pela Universidade Federal do Tocantins. Docente da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Câmpus de Gurupi (TO), Brasil.

³ Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia no PPG/Rede Bionorte da Universidade Federal de Tocantins (UFT), Palmas (TO), Brasil.

⁴ Doutor em Agronomia. Professor da Universidade Federal de São Carlos, Campus Lagoa do Sino (SP), Brasil.

⁵ Doutor em Agronomia pela Universidade Federal de Pelotas. Professor nível Associado I da Fundação Universidade Federal do Tocantins (UFT), Palmas (TO), Brasil.

⁶ Doutor em Genética e Melhoramento pela Universidade Federal de Viçosa. Professor Titular da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Câmpus Universitário de Palmas (TO), Brasil.

INTRODUÇÃO

O milho é um importante cereal, que apresenta várias utilizações, desde o consumo na alimentação humana até a produção de subprodutos por grandes indústrias, como química, farmacêutica, ração animal e de combustível; contém, aproximadamente, 72% de amido, 9,5% de proteínas, 9% de fibra e 4% de óleo (BORÉM *et al.*, 2015).

Uma das principais limitações para alcançar altos rendimentos com a cultura do milho está relacionada à utilização da adubação nitrogenada, uma vez que o nitrogênio (N) exerce um papel importante em vários processos essenciais para a manutenção da vida da planta e os solos brasileiros apresentam, de modo geral, baixo teor de N disponível (DARTORA *et al.*, 2013; MUMBACH *et al.*, 2017; VOGT *et al.*, 2014).

Entretanto, o uso de grande quantidade de N para obter maiores índices de produtividade pode resultar em perdas por lixiviação, volatilização na forma amoniacal (N-NH₃), nitrificação, desnitrificação, mineralização, imobilização e mobilização, ocasionando contaminação do lençol freático e acidificação dos solos (MOTA *et al.*, 2015). Nesse sentido, a utilização de bactérias diazotróficas como alternativa para aumentar a disponibilidade de N para as culturas poderia ser uma opção menos onerosa e mais viável ecologicamente (MORENO *et al.*, 2019).

As bactérias do gênero *Azospirillum* apresentam grande potencial de aplicação em sistemas agrícolas. Quando inoculadas, apresentam mecanismos que influenciam o desenvolvimento da planta e a fixação biológica do N, em virtude da produção de fitohormônios pelas plantas, que promove melhorias nos parâmetros fotossintéticos, na condutância estomática e na elasticidade da parede celular, alterando as variáveis de produção dessas culturas (ZAMBONIN *et al.*, 2019; ZUFFO *et al.*, 2016).

Nas plantas, as sínteses de proteína e de amido competem por fotoassimilados durante o período de enchimento de grãos onde, sob baixa disponibilidade de N mineral, os fotoassimilados são prioritariamente convertidos em carboidratos em detrimento da síntese de proteína. Por outro lado, em plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense*, mesmo sob baixo N, têm sido observados incrementos concomitantes de carboidratos e proteínas nos grãos, em virtude de aumentos promovidos pela bactéria na taxa fotossintética e na disponibilidade de N (COELHO *et al.*, 2019).

Nesse sentido, apesar de relatos na literatura sobre os efeitos benéficos das bactérias na fixação biológica de N (COELHO *et al.*, 2019; PORTUGAL *et al.*, 2017; QUINTÃO *et al.*, 2017; SANGOI *et al.*, 2015; UBERT; SOLIGO, 2015) e do uso do N em milho (SANTOS *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2020), o presente estudo foi realizado com o objetivo de se avaliar o efeito da adubação nitrogenada, associada ou não à bactéria *Azospirillum brasiliense*, no teor de proteína dos grãos de milho, em Palmas (TO).

2 MATERIAL E MÉTODOS

No ano de 2015, foram realizados dois experimentos na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins (UFT), campus de Palmas (220m de altitude, 10°45' S e 47°14' W), sendo um instalado em 10 de julho de 2015 e outro em 01 de agosto de 2015, em solo do tipo Latossolo Vermelho Amarelo, com histórico de cultivo de batata doce nos últimos dois anos, e cujo resultado da análise físico-química, na profundidade de 0-20cm, encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização físico-química de 0-20 cm do solo utilizado nos ensaios 2015

M.O g/dm ³	pH (CaCl ₂)	P (Melich 1) Mg/dm ³	K	Ca	Mg Cmolc/dm ³	CTC	SB (%)	Textura (%)	Classe
19	6,50	35	22	5,2	2,8	9,41	86,18	Argila: 23 Silte: 6 Areia: 71	Franco Argilo Arenosa

Fonte: Laboratório de solos Zoofertil (2015).

O delineamento experimental utilizado em cada experimento foi de blocos casualizados (DBC) com 30 tratamentos e três repetições.

Os tratamentos foram dispostos em um esquema fatorial 2x3x5, representado por dois sistemas de manejo de inoculação das sementes (com e sem inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*), três cultivares de milho (Al Bandeirante, variedade de polinização aberta, e os Híbridos Duplo Orion e AG-1051) e cinco doses de N (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹) realizadas em cobertura, utilizando sulfato de amônio, em doses fracionadas em partes iguais, sendo a primeira parte aplicada no estágio V4 (quatro folhas completamente desenvolvidas) e a segunda no estágio V6 (seis folhas completamente desenvolvidas), conforme a escala de Borém *et al.* (2015).

A parcela experimental foi representada por quatro fileiras de cinco metros de comprimento, espaçadas de um metro. Na colheita, foram utilizadas as duas fileiras centrais, sendo descartada 0,50m da extremidade de cada fileira, totalizando uma área útil de 8m².

O preparo do solo foi realizado através de aração e gradagem niveladora convencional, seguida de sulcamento. A adubação de pré-plantio foi realizada manualmente, conforme exigências da cultura e após prévia análise do solo, utilizando 70kg ha⁻¹ de P₂O₅ no sulco de semeadura, na formulação superfosfato simples, e 48kg ha⁻¹ de K₂O utilizando cloreto de potássio, sendo metade no sulco de semeadura, e a outra metade no estágio V6 (sexta folha completamente desenvolvida).

No momento da semeadura, foi realizada manualmente inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* na dosagem de 400 ml ha⁻¹ do produto comercial GRAP NO, estirpes AbV5 e AbV6.

No Gráfico 1 temos os dados da temperatura média mensal e semanal, registrados durante o período de condução dos ensaios experimentais (julho a dezembro de 2015), obtidos no laboratório de Meteorologia e Climatologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), campus de Palmas (UFT; INMET, 2015).

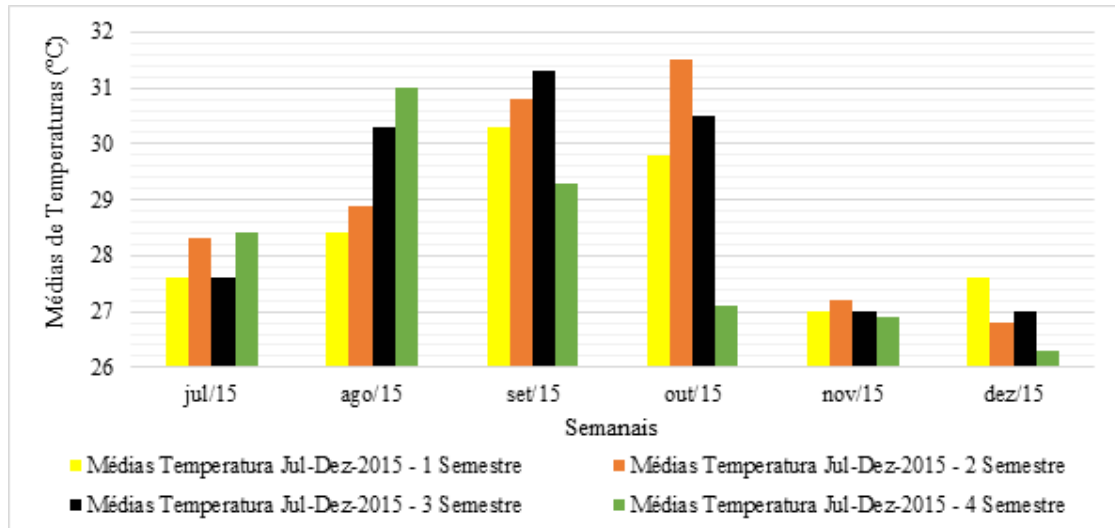


Gráfico 1. Médias de Temperaturas (°C) semanais ocorridas durante a condução dos ensaios experimentais na entressafra 2015.

A colheita foi realizada quando os grãos atingiram a maturidade fisiológica (plantas em estágio R6), sendo utilizadas todas as espigas da área útil de cada parcela, que foram identificadas por tratamento, trilhadas e os grãos, acondicionados em um único saco de papel, foram transportados para o Laboratório do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins - campus de Palmas, onde foi realizada a moagem dos grãos por triturador.

Após a moagem dos grãos, foi determinado o teor de proteína (%) dos grãos, segundo o método de Kjeldahl (AOAC, 1995). Esse método consiste na obtenção do nitrogênio total da amostra no qual é convertido para proteína bruta por meio do fator 6,25 (referente aos cereais), utilizando 0,5 gramas por amostra do material seco e moído (Instituto Adolfo Lutz (IAL), 2005). Neste caso, as determinações foram realizadas na matéria seca, utilizando-se três repetições laboratoriais por amostra de cada tratamento.

Os dados do teor de proteína (%) foram submetidos à análise de variância individual e, em seguida, à análise conjunta, nos quais o menor quadrado médio residual não diferiu por mais de sete vezes do maior quadrado médio (CRUZ *et al.*, 2014), sendo as médias dos genótipos, do manejo da inoculação das sementes e das épocas de semeadura comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância.

Foi realizado ajuste de equações de regressão visando à máxima eficiência técnica (MET) para caracteres de proteína (%) pelas doses de nitrogênio (kg ha^{-1}).

Para as doses de N, em cada genótipo, realizou-se análise de regressão, sendo a significância dos coeficientes angulares das equações determinados pelo teste “t” de Student, a 5% de significância.

Os programas estatísticos utilizados foram o SISVAR 5.0 (FERREIRA, 2011) e SIGMAPLOT *software* 12.5.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

A análise de variância conjunta (Tabela 2) revelou efeito significativo para todos os fatores isolados, para as interações duplas e para a interação tripla (Cultivar x com inoculação de *Azospirillum brasilense* (C/A) e sem inoculação de *Azospirillum brasilense* (S/A) x Nitrogênio). A significância das interações triplas

indica que os efeitos dos fatores isolados não explicam toda a variação encontrada, sendo assim realizados os desdobramentos.

Tabela 2. Análise de Variância Conjunta teor de proteína (%) em três genótipos de milho, com e sem inoculação de *Azospirillum brasilense*, em diferentes doses de Nitrogênio e épocas de semeadura, na entressafra 2015, em Palmas (TO)

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio
Época	1	15,0*
Cultivar	2	5,2*
Processos Inoculação (C/A e S/A)	1	26,7*
Nitrogênio	4	12,9*
Repetições (Bloco)	4	0,144 ^{ns}
Épocas x Cultivar	2	0,43*
Épocas x C/A e S/A	1	4,26*
Épocas x Nitrogênio	4	0,35*
Cultivar x C/A e S/A	2	1,45*
Cultivar x Nitrogênio	8	0,99*
C/A e S/A x Nitrogênio	4	1,80*
Épocas x Cultivar x C/A e S/A	2	0,90*
Épocas x Cultivar x Nitrogênio	8	2,42*
Cultivar x C/A e S/A x Nitrogênio	8	1,90*
Épocas x C/A e S/A x Nitrogênio	4	0,40*
Erro	124	124
Coeficiente de Variação (%)		4,87
Média geral		7,5

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F; ns - Não significativo.

O estudo comparativo entre as médias dos manejos com (C/A) e sem inoculação (S/A), em cada época de semeadura e em cada cultivar, revelou um maior conteúdo proteico nos grãos quando as sementes foram inoculadas com *Azospirillum* (Tabela 3).

A inoculação de bactérias diazotróficas em plantas, a exemplo do *Azospirillum brasilense*, dependendo do ambiente e da interação com a planta, pode converter o N atmosférico e disponibilizá-lo para as plantas, resultando em alterações na composição do grão (FUKAMI *et al.*, 2016; PRANDO *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2014).

As bactérias do gênero *Azospirillum* promovem alterações fisiológicas na planta, com destaque para o aumento no teor de clorofila nas folhas, que resultam em melhoria dos parâmetros fotossintéticos das plantas (MORENO *et al.*, 2019).

Em plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* Dartora *et al.* (2013) observaram incrementos concomitantes de carboidratos e proteínas nos grãos, em virtude de aumentos promovidos pela bactéria na taxa fotossintética e na disponibilidade de N.

Em trabalho desenvolvido por Quadros *et al.* (2014), plantas inoculadas com *Azospirillum* apresentaram maior taxa de fotossíntese e maior condutância estomática.

O estudo comparativo entre as épocas (Tabela 3) revelou um maior conteúdo proteico para todas as cultivares no sistema de manejo com a inoculação de *Azospirillum* na primeira época (10/07). Por outro lado, com exceção da variedade Al Bandeirantes que apresentou maior conteúdo proteico na segunda época (01/08), não foram detectadas diferenças, para as demais cultivares, para os manejos sem inoculação de *Azospirillum*.

O maior teor de proteína na primeira época de semeadura (10/07) (Gráfico 1) ocorreu, provavelmente, em função da ocorrência de temperaturas menores na fase vegetativa em relação à segunda época de semeadura (01/08).

Segundo Santos *et al.* (2017) e Borém *et al.* (2015), o abastecimento de N, em consequência de eficiente nodulação e concomitante processo simbiótico de fixação, é reflexo da elevação da temperatura do ar que, somada à radiação solar, aumentam a temperatura do solo, afetando os nódulos radiculares e, quando coincidem com a época de alta demanda de compostos nitrogenados pela planta (fase reprodutiva da cultura), resultará em menor disponibilidade de N para os grãos e, por consequente, um menor conteúdo proteico. Esses resultados concordam com aqueles obtidos por Lima *et al.* (2017), que discorreram, também, sobre o efeito isolado e/ou associado de baixa disponibilidade hídrica e altas temperaturas na composição química dos grãos.

Tabela 3. Médias de teor de proteína (%) em três genótipos de milho, com e sem inoculação de *Azospirillum brasilense*, em duas épocas de semeadura, na entressafra 2015, em Palmas (TO)

Cultivar	Época 1 (10/07)		Época 2 (01/08)	
	C/A	S/A	C/A	S/A
Orion	8,38 Ba1	7,45 Ab1	7,36 Ba2	6,92 Bb1
Al. Bandeirante	8,92 Aa1	7,11 Bb2	7,77 Aa2	7,34 Ab1
AG 1051	7,84 Ca1	7,05 Bb1	7,07 Ca2	6,83 Ba1

1 - Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, entre os processos (C/A e S/A), dentro da mesma época e para o mesmo genótipo, pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

2 - Médias seguidas pelo mesmo número na linha, entre as épocas de semeaduras (1^a e 2^a), dentro do mesmo processo e para o mesmo genótipo, pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3 - Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, entre os genótipos, e da mesma época de semeadura, pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

De modo geral, a variedade Al Bandeirante apresentou maior teor de proteína (%) nas épocas e nos diferentes tipos de manejo com e sem *Azospirillum* (Tabela 3).

Segundo Spolaor *et al.* (2016), na cultura do milho, dependendo da espécie de Poaceae a qual a bactéria esteja associada, o *Azospirillum* apresenta uma maior ou menor atividade de fixação de N₂.

Em soja, Zuffo *et al.* (2016) afirmam que cada genótipo pode apresentar comportamentos intrínsecos referentes à sua capacidade de modificação, aspectos agrônômicos de desenvolvimento e produtividade, que são influenciados, principalmente, pelas condições ambientais nas diferentes épocas de plantios.

Diversos outros estudos retratam o efeito do genótipo quanto à resposta na inoculação de diazotróficos em gramíneas, como milho (COELHO *et al.*, 2019).

Para a cultivar Orion, no sistema de manejo (C/A) e na 1ª época de semeadura (10/07) (Figura 1) foi ajustado modelo quadrático com aumento no teor de proteína até alcançar a máxima eficiência técnica (MET) de 8,54% e 8,72%, nas doses de N de 112 kg ha⁻¹ e N 116 kg ha⁻¹, respectivamente. A partir da dose que resultou na MET, houve uma redução percentual de proteína.

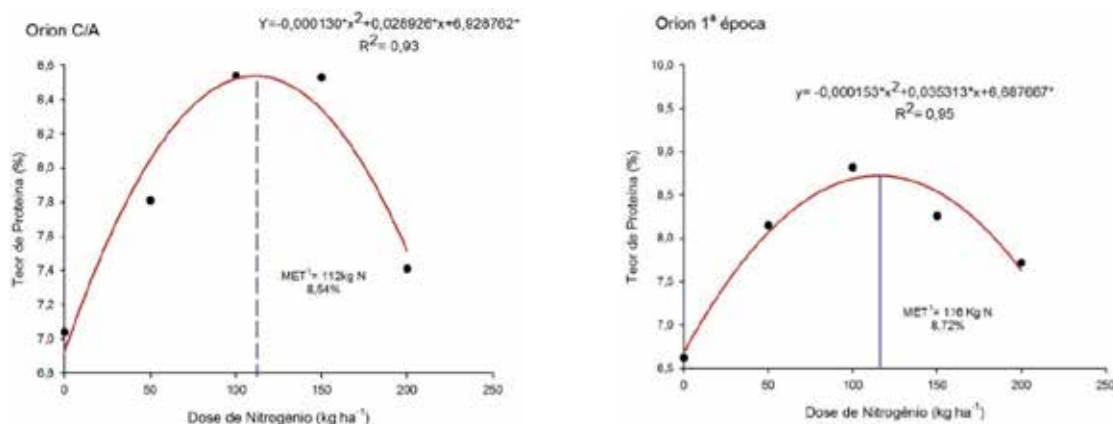
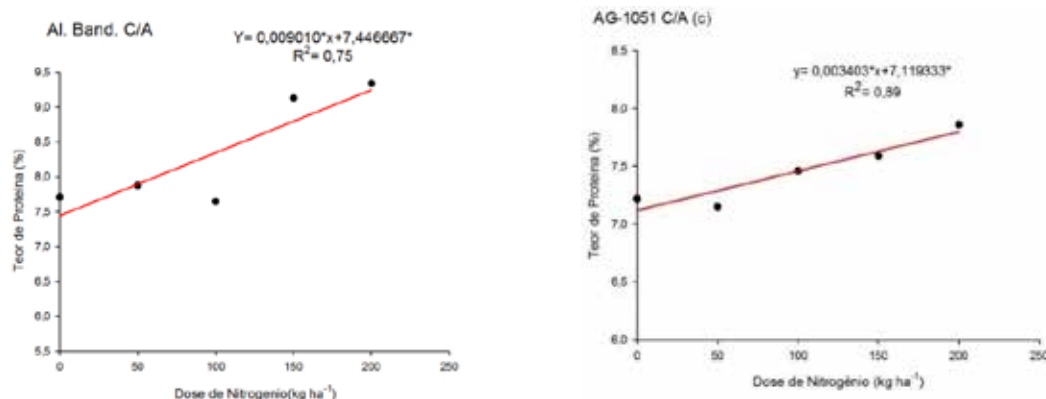


Figura 1. Teor de proteína (%) na cultivar Orion, sob cinco doses de adubação nitrogenada na 1ª época (10/07) e no processo com inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas (TO), entressafra 2015. *significativo a 5% de probabilidade pelo teste t, ¹Máxima Eficiência Técnica

Para esta dose que resultou na MET de cada genótipo, houve uma redução no teor de proteína (%), provavelmente em função do efeito antagônico do N na absorção de outros elementos, principalmente o potássio, prejudicando o desenvolvimento das plantas (BORÉM *et al.*, 2015).

Por outro lado, para os genótipos Al Bandeirantes e AG 1051, nos sistemas de manejo C/A e S/A, e na 1ª (10/07) e 2ª épocas (01/08), e Orion no sistema de manejo S/A e na 2ª época, o modelo linear foi o mais adequado, onde as doses de N utilizadas no presente estudo não foram suficientes para que as mesmas alcançassem o máximo teor de proteína (Figura 2). Neste caso, como não foi obtido o máximo teor de proteína, há a necessidade de que sejam realizados estudos com outras doses de N.



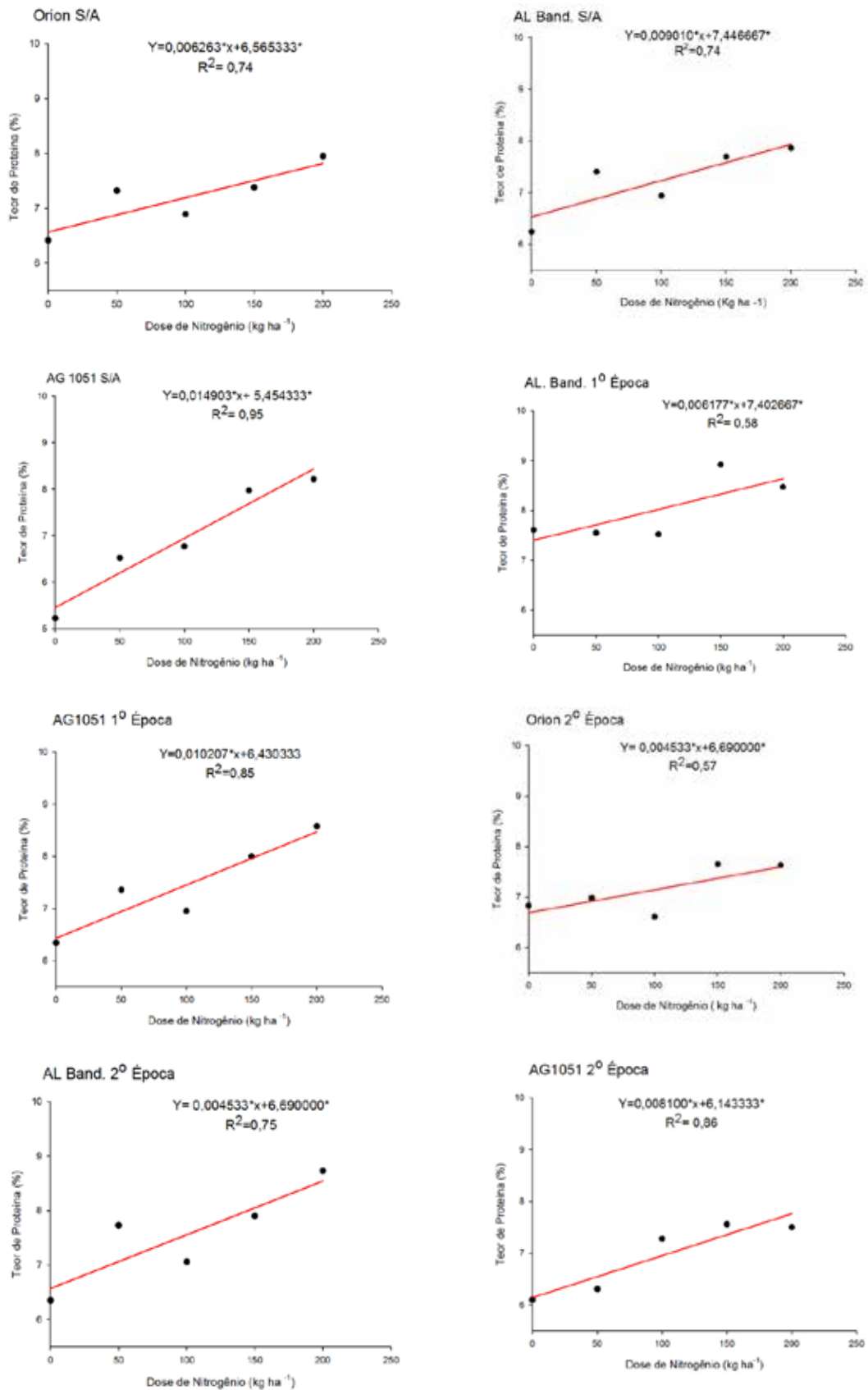


Figura 2. Teor de proteína (%) em genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada entre épocas diferentes (10/07 e 01/08) e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas (TO), entressafra 2015. *significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

O N é considerado um dos maiores fatores de produção responsáveis pelo acréscimo da produtividade e da proteína dos grãos de milho (SANTOS *et al.*, 2020).

O estímulo proporcionado pela adubação nitrogenada no desenvolvimento da planta como um todo é devido ao fato do N estar intimamente ligado ao processo de crescimento da planta participando da constituição de proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucleicos, fitocromos, pigmentos fotossintéticos etc. (DARTORA *et al.*, 2013).

Mascarello e Zanão Junior (2015), ao trabalharem com três doses de N aplicadas em cobertura (0, 25 e 50 kg ha⁻¹ de N) associadas à inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*, verificaram que a adubação nitrogenada em cobertura influenciou de forma positiva o teor de proteína nos grãos. Por outro lado, a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* não afetou significativamente o conteúdo de proteína.

Souza *et al.* (2014) também notaram aumento no teor de N nos grãos com o incremento das doses de N no plantio. O aumento de N nos grãos é interessante, dada sua associação com o aumento no teor de proteínas.

O genótipo AG 1051, em comparação com os demais, apresentou um maior incremento no teor de proteína nos grãos em função de doses de N no manejo S/A (Figura 2). Tal fato ocorreu em virtude de o mesmo ser um híbrido duplo, ou seja, ser indicado para cultivo em condições em que o nível tecnológico empregado seja alto, respondendo sobremaneira à melhoria do ambiente.

Segundo Spolaor *et al.* (2016), os resultados da interação bactérias diazotróficas e milho em termos de potencial agrônomo, fixação de N ou promoção do crescimento, depende de muitos fatores bióticos e ambientais, tais como genótipo da planta, comunidade microbiológica do solo e disponibilidade de N.

Ressalta-se que o genótipo Al Bandeirante, nos sistemas de manejo S/A e C/A, e na 1^a e 2^a épocas de semeadura, apresentou um maior conteúdo proteico nos grãos sob baixa disponibilidade de N no solo (Tabela 3). Isso decorreu pelo fato de ser uma variedade de polinização aberta, que apresenta alta rusticidade, ampla adaptabilidade e estabilidade produtiva, sendo, portanto, recomendado para solos de baixa a até solos de alta fertilidade.

4 CONCLUSÃO

Temperaturas menores durante a fase vegetativa resultaram em maior conteúdo de proteína nos grãos.

O híbrido AG 1051 apresentou um maior incremento no teor de proteína nos grãos em função de doses de N sem o uso do *Azospirillum brasilense*.

A variedade Al Bandeirante, em virtude de sua rusticidade, apresentou um maior conteúdo proteico nos grãos sob baixa disponibilidade de N na presença ou ausência do *Azospirillum brasilense*.

A inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* poderá ser uma alternativa viável na redução do uso de fertilizantes nitrogenados.

REFERÊNCIAS

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 16. ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1141p.

BORÉM, A.; GALVÃO, J. C. C.; PIMENTEL, M. A. **Milho: do plantio à colheita**. Viçosa: UFV, 2015. 351p.

COELHO, B. A.; DIAS, V. C.; PELÚZIO, J. M.; SOUZA, C. M.; SIQUEIRA, G. B.; SANTOS, W. F. Produtividade do milho cultivado em baixa latitude na entressafra inoculado com *Azospirillum brasilense* com diferentes doses de nitrogênio. **Journal of Bioenergy and Food Science**, Macapá, v. 6, n. 1, p. 18-28, 2019. DOI: <https://doi.org/10.18067/jbfs.v6i1.255>

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2014, 668p.

DARTORA, J.; GUIMARAES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum Brasilense* e *Herbaspirillum Seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 10, p. 1023-1029, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662013001000001>

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v. 6, n. 3, p. 1-13, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13568-015-0171-y>. Acesso em: 04 jun. 2020.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005. 1018p.

LIMA, A. M. N.; PELUZIO, J. M.; SIQUEIRA, F. L. T.; OLIVEIRA JUNIOR, W. P. Efeito do déficit hídrico e época de semeadura sobre os teores e rendimentos de óleo e proteína em cultivares de soja no Tocantins. **Revista de la Facultad de Agronomía**, Buenos Aires, v. 116, n. 2, p. 193-199, 2017. Disponível em: <https://revistas.unlp.edu.ar/revagro/article/view/6175>. Acesso em: 16 jun. 2020.

MASCARELLO, G.; ZANÃO JÚNIOR, L. A. Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum Brasilense*. **Revista Cultivando o saber**, Cascavel, edição especial, p. 46-55, 2015. Disponível em: https://www.fag.edu.br/upload/revista/cultivando_o_saber/566ec3b5143a2.pdf. Acesso em: 05 jun. 2020.

MORENO, A. L.; KUSDRA, J. F.; PICAZEVICZ, A. A. C. Crescimento do milho em resposta a *Azospirillum brasilense* e nitrogênio. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, Aracaju, v. 10, n. 5, p. 287-294, 2019. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2019.005.0025>

MOTA, M. R.; SANGOI, L.; SCHENATTO, D. E.; GIORDANI, W.; BONIATTI, C. M.; DALLIGNA, 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. DOI: <https://doi.org/10.1590/01000683rbcs20140308>

MUMBACH, G. L.; KOTOWSKI, I. E.; SCHNEIDER, F. J. A.; MALLMANN, M. S.; BONFADA, É. B.; PORTELA, V. O.; BONFADA, É. B.; KAISER, D. R. Resposta da inoculação com *azospirillum brasilense* nas culturas de trigo e de milho safrinha. **Revista Scientia Agraria**, Curitiba, v. 18, n. 2, p. 97-103, 2017. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/agraria/article/view/51475>. Acesso em: 14 jun. 2020.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 2009. 451p.

PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; PERES, A. R.; GITTI, D. C.; GARCIA, N. F. S. Coberturas vegetais, doses de nitrogênio e inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho no Cerrado. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 48, n. 4, p. 639-649, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170074>

- PRANDO, A. M.; SOUZA, T. M.; OLIVEIRA JUNIOR, A.; ZUCARELI, C. Produtividade, índice de vegetação e clorofila de trigo em resposta à inoculação com *azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada em cobertura. **Cultura Agrônômica**, Ilha Solteira, v. 28, n. 3, p. 329-342, 2019. DOI: <http://doi.org/10.32929/2446-8355.2019v28n3p329-342>
- QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2014000200008>
- QUINTÃO, L. R. M.; QUEIROZ, I. D. S.; TORRES, J. L. R.; FERREIRA, A. S.; FARIA, M. V.; SIQUEIRA, T. P. Associação entre doses de nitrogênio e inoculação das sementes com bactéria diazotrófica no Milho. **Revista de la Facultad de Agronomía**, Buenos Aires, v. 116, n. 2, p. 171-178, 2017. Disponível em: <https://revistas.unlp.edu.ar/revagro/article/view/6172>. Acesso em: 14 jun. 2020.
- SANGOI, L.; SILVA, L. M. M.; MOTA, M. R.; PANISON, F.; SCHMITT, A.; SOUZA, N. M.; GIORDANI, W.; SCHENATTO, D. E. Desempenho agrônômico do milho em razão do tratamento de sementes com *azospirillum* sp. e da aplicação de doses de nitrogênio mineral. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, n. 4, p. 1141-1150, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/01000683rbcs20140736>
- SANTOS, W. F.; AFFÉRRRI, F. S.; PELÚZIO, J. M.; SODRÉ, L. F.; REINA, E.; PEREIRA, J. S. Efficiency of nitrogen and genetic divergence in corn aiming for the production of protein. **Journal of Bioenergy and Food Science**, Macapá, v. 4, n. 4, p. 135-144, 2017. DOI: <https://doi.org/10.18067/jbfs.v4i4.191>
- SANTOS, W. F.; SANTOS, L. F. S.; PELÚZIO, J. M.; PEREIRA, J. S.; REIS, I. M.; SILVA, R. M. Resposta e eficiência agrônômica em genótipos de milho à adubação nitrogenada no Sul do Pará. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Recife, v. 24, n. 2, p. 1-5, 2020. DOI: <http://doi.org/10.12661/pap.2019.010>
- SOUZA, T. M.; PRANDO, A. M.; TAKABAYASHI, C. R.; SANTOS, J. S.; ISHIKAWA, A. T.; FELÍCIO, A. L. S. M.; ITANO, E. N.; KAWAMURA, O.; ZUCARELI, C.; HIROOKA, E. Y. Composição química e desoxinivalenol em trigo da região centro-sul do Paraná: adubação nitrogenada em cobertura associada com *Azospirillum Brasilense*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 27-342, 2014. DOI: <http://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n1p327>
- SPOLAOR, L. T.; GONÇALVES, L. S. A.; SANTOS, O. J. A. P.; OLIVEIRA, A. L. M.; SCAPIM, C. A.; BERTAGNA, F. A. B.; KUKI, M. C. Bactérias promotoras de crescimento associadas a adubação nitrogenada de cobertura no desempenho agrônômico de milho pipoca. **Bragantia**, Campinas, v. 75, n. 1, p. 33-40, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4499.330>
- UBERT, I. P.; SOLIGO, S. C. Associação de *azospirillum brasilense* a doses de nitrogênio na cultura do sorgo silageiro. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 220-229, 2015. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2015b/agrarias/ASSOCIACAO%20DE%20AZOSPIRILLUM.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2020.
- VOGT, G. A.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; GALLOTTI, G. J. M.; PANDOLFO, C. M.; ZOLDAN, S. R. Desempenho de genótipos de milho na presença ou ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada de cobertura pecuária catarinense. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 27, n. 2, p. 49-54, 2014. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/108268/1/Desempenho-de-genotipos-de-milho-na-presenca-ou-ausencia-de-inoculacao-com-Azospirillum-brasilense-e-adubacao-nitrogenada-de-cobertura.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2020.
- ZAMBONIN, G.; PACENTCHUK, F.; LIMA, F. N.; HUZAR-NOVAKOWISKI, J.; SANDINI, I. E. Response of maize crop hybrids, with different transgenic events, to inoculation with *Azospirillum brasilense*.

Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia, Guarapuava, v. 12, n. 1, p. 33-40, 2019. <http://doi.org/10.5935/PAeT.V12.N1.03>

ZUFFO, A. M.; BRUZI, A. T.; REZENDE, P. M.; BIANCHI, M. C.; ZAMBIAZZI, E. V.; SOARES, I. O.; RIBEIRO, A. B. M.; VILELA, G. L. D. Morphoagronomic and productive traits of RR® soybean due to inoculation via *Azospirillum brasilense* groove. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v. 10, n. 13, p. 438-444, 2016. <http://doi.org/10.5897/AJMR2015.7682>