



## EMERGÊNCIA E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE MILHO INOCULADO COM *Azospirillum brasiliense*

EMERGENCY AND INITIAL DEVELOPMENT OF CORN INOCULATED WITH *Azospirillum brasiliense*

Geovana Monteiro Rodrigues<sup>1</sup>; Cláudia Fabiana Alves Rezende<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Discente do curso de Agronomia, UniEvangélica, Anápolis, GO, Brasil.

<sup>2</sup>Docente, Doutora em Agronomia, UniEvangélica, Anápolis, GO, Brasil.

### Info

ISSN: 2595-6906

DOI: 10.37951/2595-6906.2022v6i1.6948

### Palavras-Chave

Bactéria diazotrófica, *Zea Mays*, taxa de germinação.

### Keywords:

Diazotrophic bacteria, *Zea Mays*, germination rate.

### Resumo

Bactéria diazotrófica do gênero *Azospirillum* promovem o crescimento vegetal de gramíneas como milho, através do aumento da superfície de absorção das raízes, produção de fito-hormônios e fixação biológica de nitrogênio. Este trabalho teve como objetivo avaliar a inoculação *Azospirillum brasiliense* e seus efeitos sobre a germinação de semente e desenvolvimento inicial de plântulas de milho. O estudo foi desenvolvido na estação experimental da Emater, no município de Anápolis, GO. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados 3x2, sendo três variedades, dois tratamentos e cinco repetições, consistentes

nos híbridos KWS 8774 PRO3 (transgênico); ADV 9860 PRO2 (transgênico) e a cultivar bandeirantes (sem transgenia) e a inoculação com *Azospirillum brasiliense* estirpe AbV5 e AbV6. As unidades experimentais foram constituídas de vasos plásticos, as quais foram divididas em doze parcelas experimentais. Avaliou-se porcentagem de emergência, índice de velocidade de emergência, tempo médio de germinação, velocidade média de emergência, massa fresca e seca das plantas, massa fresca e seca da raiz, comprimento de raiz e planta e diâmetro do caule. Os dados coletados foram tabulados e submetidos à análise de variância ANOVA e a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade realizada pelo software SISVAR®. A inoculação com *Azospirillum brasiliense* apresenta eficiência frente aos híbridos de milho utilizado. Sendo que a presença de diferentes tecnologias da semente não teve influência decisiva sobre o desenvolvimento inicial da planta frente a inoculação. Para o plantio no mês de julho a inoculação influenciou o desempenho nos parâmetros de comprimento de raiz, altura de plantas, diâmetro de colmo e massa seca de raiz. Para o plantio no mês de agosto a inoculação influenciou o desempenho de comprimento de raiz, diâmetro de colmo, massa seca de raiz e parte aérea. As variações observadas com a inoculação *Azospirillum brasiliense* no desenvolvimento inicial do milho devem ser melhor estudadas para a sua elucidação.

### Abstract

Diazotrophic bacteria of the genus *Azospirillum* promote plant growth of grasses such as corn, by increasing the root absorption surface, phytohormones production and biological nitrogen fixation. This work aimed to evaluate the inoculation of *Azospirillum brasiliense* and its effects on seed germination and initial development of maize seedlings. The study was carried out at Emater's experimental station, in the city of Anápolis, GO. The experiment was carried out in a randomized block design 3x2, with three varieties, two treatments and five replications, consistent in the hybrids KWS 8774 PRO3 (transgenic); ADV 9860 PRO2 (transgenic) and to cultivar Bandeirantes (without transgenic) and inoculation with *Azospirillum brasiliense* strain AbV5 and AbV6. The experimental units consisted of plastic vases, which were divided into twelve experimental parcels. Emergence percentage, emergence speed index, mean germination time, mean emergence speed, plant fresh and dry mass, root fresh and dry mass, root and plant length and stem diameter were evaluated. The collected data were tabulated and subjected to analysis of variance ANOVA and comparison of means by Tukey test at 5% probability performed by the SISVAR® software. Inoculation with *Azospirillum brasiliense* is efficient against the corn hybrids used. The presence of different seed technologies did not have a decisive influence on the initial development of the plant against inoculation. For July planting, inoculation influenced the performance in the parameters of root length, plant height, stem diameter and root dry mass. For the August planting, inoculation influenced the performance of root length, stem diameter, dry mass of root and shoot. The variations observed with the inoculation *Azospirillum brasiliense* in the initial development of corn should be better studied for its elucidation.

## INTRODUCTION

O milho é uma gramínea conhecida como uma das de maior importância mundial, propiciado pela a versatilidade de sua utilização. É um alimento de grande valor energético e de custo parcialmente baixo (MÓRO et al., 2015). Em consequência da posição geográfica e condições climáticas do Brasil, o milho é capaz de ser cultivado em dois períodos por ano, chamados de primeira e segunda safra (ANDREA et al., 2018). A produção na segunda safra recebeu inicialmente a denominação de ‘safrinha’, devido condições pouco favoráveis, principalmente devido à disponibilidade hídrica, no período de cultivo após a colheita da safra de verão, geralmente explorada com a cultura da soja (SIMÃO, 2016).

A grande demanda mundial por alimentos e seus derivados faz-se da cultura do milho objetivo de muitos estudos visando o alcance de elevados níveis de produtividade (CHAGAS et al., 2018).

Em questão de adubação, a cultura do milho está entre as que mais exigem fertilizantes, os nitrogenados principalmente, representando um fator limitante a produtividade quanto na sua ausência (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2017). O nitrogênio (N) é o nutriente mais importante para cultura do milho, sendo absorvido em alta quantidade pela planta (CAIRES et al., 2016).

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. Além de possuírem a capacidade de fixar o N biologicamente, tem aptidão para a produção de hormônios vegetais, atuando no desenvolvimento radicular das plantas (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2017). O que leva, conseqüentemente a ampliação da produtividade, ou seja, esta união é capaz de resultar em

ganhos de produção e diminuição dos custos (CICILATO et al., 2015).

Segundo Dartora et al. (2013), em avaliação de germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo, atribuíram maior porcentagem de germinação, maior vigor, melhor desenvolvimento inicial das plântulas e maior desenvolvimento radicular à produção de fito hormônios por *A. brasilense*.

Fukami et al. (2016) analisaram que a inoculação com grandes doses de *Azospirillum brasilense*, inibiram o crescimento de plantas de milho e trigo, resultado da abundância bacteriana no sistema radicular, que pode ter otimizado a secreção de tais hormônios e comprometido o crescimento das raízes. De acordo com Silveira et al. (2016), a inoculação com *A. brasilense* possibilita o crescimento das raízes de trigo, pela capacidade das mesmas em sintetizar ácido indolacético e fixar nitrogênio.

Segundo Pies et al. (2017), a inoculação da cevada com *Azospirillum brasilense* aumentou o perfilhamento e o comprimento radicular da cultura. O aumento das populações da daninha diminuíram; a altura, o perfilhamento, teor de clorofila das folhas, comprimento, volume e massa seca das raízes da cevada. A inoculação da cevada com *Azospirillum brasilense* não favoreceu, de maneira perceptível, na competitividade da cevada.

Em trabalho realizado por Libório et al. (2016), as plantas apresentaram maior produção de matéria seca de raízes quando inoculadas comparadas a plantas não inoculadas. Foi verificado também que, dependendo do parâmetro analisado, ocorre que a metade da dose de nitrogênio recomendada para a cultura se completar com a inoculação a base de *Azospirillum brasilense*, terá os mesmos a quando adicionar o dobro da carga na cultura. Esses resultados, produzem benefícios econômicos e ambientais, pois com o uso de menores doses de N teremos menor gasto

e diminuição da poluição ambiental causada por fertilizantes por lixiviação e volatilização.

Diante do exposto, objetivou-se com esse trabalho avaliar a germinação de sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas de milho inoculadas com *Azospirillum brasilense*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na estação experimental da Emater no município de Anápolis, GO, entre as coordenadas geográficas, Latitude – 16°20'12.614" S e Longitude 48°53'13.1010" O, altitude média de 1.051 m. O clima da região é classificado de acordo com Köppen, como Aw (tropical com estação seca) com mínima de 18 °C e máxima de 32 °C, com chuvas de outubro a abril e precipitação pluviométrica média anual de 1.450 mm e temperatura média anual de 22 °C.

O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico, textura média (30% argila). O experimento foi dividido em duas épocas independentes, sendo a primeira época (época 1) de 13/07/2020 até 10/08/2020, e a segunda época de 18/08/2020 até 14/09/2020 (época 2), sendo assim as características climáticas apresentadas em cada época as distinguem e não permitem a correlação.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 3x2, sendo três variedades, dois tratamentos e quatro repetições, consistente nos híbridos de milho KWS 8774 PRO3 (transgênico); ADV 9860 PRO2 (transgênico) e a cultivar bandeirantes (sem transgenia) e sem e com inoculação de *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5 e AbV6. Durante a realização do trabalho, as unidades experimentais foram constituídas de vasos plásticos (5,0 Kg), as quais foram divididas em doze parcelas experimentais dispostas em ambiente protegido.

O solo da camada superficial (primeiros 10 cm de profundidade) foi peneirado para o uso. Para o

preenchimento dos vasos foi utilizado mistura de duas partes de solo e uma parte de areia e posicionados na casa telada e realizada a adubação equivalente a 400 kg ha<sup>-1</sup> 08-28-18. A inoculação das sementes ocorreu cerca de 30 minutos antes da semeadura, sendo utilizados 1,0 ml de inoculante para 1.000 sementes, acondicionada em pacotes plásticos vedados para não ocorrer contaminação com microrganismos presente na atmosfera.

A semeadura foi realizada a 2,0 cm de profundidade, sendo acondicionadas quatro sementes por vaso totalizando 16 sementes por parcela, e posicionados na casa de vegetação. Após a semeadura foi realizada irrigação, a qual se procedeu diariamente, mantendo na condição de campo a umidade das parcelas experimentais.

Foram coletados os dados de emergência até o 7º dia. No 20º dia as plantas foram colhidas para a realização das demais análises. Posteriormente foram efetivadas as avaliações biométricas das plântulas sendo porcentagem de emergência, índice de velocidade de emergência, tempo médio de germinação, velocidade média de emergência, massa fresca e seca das plantas (g), massa fresca e seca da raiz (g), comprimento de raiz e planta (cm) e diâmetro do caule (mm). Em seguida, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel e conduzidas para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 72 h, sendo determinada a massa seca de parte aérea (g) (MSPA) e massa seca da raiz (g) (medida) (MSR).

Os dados coletados foram tabulados e submetidos à análise de variância ANOVA e a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade realizada pelo software SISVAR® (FERREIRA, 2014).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido as diferentes condições edafoclimáticas existentes entre os dois períodos de avaliação dos

experimentos, é interessante discutir os resultados separadamente por época de plantio, visando favorecer a compreensão da interação entre os genótipos avaliados com o *Azospirillum brasilense*.

De acordo a tabela 1 para o comprimento de raiz (CR) não ocorre diferenças estatística entre os híbridos na presença da inoculação, porém, pode se observar que o híbrido ADV 9860 PRO2 foi o que apresentou maior CR na presença da inoculação e o pior desempenho na ausência. Plantas inoculadas com *Azospirillum* spp. tem a morfologia do sistema radicular alterada, aumentando o número de radículas, diâmetro médio das raízes laterais e adventícias, possibilitando uma maior exploração do volume do solo (DOBBELAERE et al., 2003).

Para a AP não ocorre diferença estatística entre os híbridos e a presença da inoculação e para o DC não ocorre diferenças estatística para a presença da inoculação, porém, observar-se que o híbrido ADV 9860 PRO2 foi o que apresentou maior AP e DC na presença da inoculação e o menor desempenho na presença da inoculação foi para o bandeirantes. Cavallet et al. (2000) observaram que plantas inoculadas com *Azospirillum* não apresentaram alteração na altura, o que é importante, pois anula o efeito negativo ligado a tombamento de plantas.

Já Cunha et al. (2014) destacam que a inoculação *A. brasilense* não promoveu efeito significativo no diâmetro de colmo. Revolti (2014) estudando os efeitos das formas de inoculação com *A. brasilense*, observou que a inoculação com a bactéria diazotrófica não influenciou o acúmulo de massa. Para MFR ocorre diferenças estatística entre os híbridos e a presença da inoculação, sendo sem a inoculação apresenta-se um melhor desempenho e para a MFPA ocorrem diferenças significativas entre os híbridos, sendo que as sementes tratadas apresentaram média semelhante as não tratadas.

Pode se observar que o híbrido KWS 8774 PRO3 foi o que apresentou maior MFR na ausência da inoculação e o pior desempenho o híbrido ADV 9860 PRO2 não havendo diferença entre a presença e ausência da inoculação. Já o híbrido bandeirantes foi o que apresentou maior MFPA na ausência da inoculação e o pior desempenho o híbrido ADV 9860 PRO2 não havendo diferença entre a presença e ausência da inoculação. Zemrany et al. (2006) estudando a inoculação de *A. brasilense* em milho, durante dois anos consecutivos, observaram maior crescimento de raízes e maior desenvolvimento de plantas no período vegetativo.

**TABELA 1** – Comprimento de raiz (CR), altura de plantas (AP), diâmetro de colmo (DC), massa fresca da raiz (MFR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA) com e sem inoculação de *Azospirillum brasilense*, plantio em 13/07/2020, Anápolis, GO.

<i>Azospirillum Brasilense / Época I</i>	CR (cm)		AP (cm)		DC (mm)		MFR (g)									
	com	sem	com	sem	com	sem	com	sem								
KWS 8774 PRO3	44,0	Aa	44,8	Aa	29,3	Aa	29,5	Aa	0,2	Ab	0,2	Aa	2,2	Aa	2,3	Aa
ADV 9860 PRO2	46,7	Aa	41,5	Aa	31,6	Aa	29,3	Aa	0,2	Aa	0,2	Aa	0,4	Ac	0,4	Ab
Bandeirantes	46,3	Aa	44,8	Aa	23,7	Ab	30,5	Aa	0,1	Ac	0,2	Aa	1,2	Ab	2,3	Aa
Teste F interação	0,00	**			0,00	**			0,00	**			0,00	**		
CV(%)	15,55		16,26		26,62		16,26									
<i>Azospirillum Brasilense / Época I</i>	MFPA (g)		MSR (g)		MSPA (g)											
	com	Sem	com	sem	com	sem										
KWS 8774 PRO3	2,5	Aa	3,1	Ab	0,5	Ab	0,5	Ab	0,3	Ab	0,3	Ab				
ADV 9860 PRO2	0,3	Ab	0,3	Ac	1,3	Aa	1,1	Aa	0,6	Aa	0,7	Aa				

Bandeirantes	2,6	Aa	3,5	Aa	0,3	Ab	0,4	Ab	0,3	Ab	0,3	Ab
Teste F interação	0,00		**		0,00		**		0,00		**	
CV(%)	10,55				13,25				24,89			

\*médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Já Dartora et al. (2013), não observaram diferença para número de raízes. Segundo Pandolfo et al. (2015), o uso da inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho não interfere no aumento de rendimento e não altera a altura e massa da planta. Já Teixeira et al. (2017), verificaram ganho percentual para altura de plantas variando de 2,2 a 25%.

Para MSR ocorre diferenças estatística entre os híbridos e para a MSPA não ocorre diferenças estatística entre os híbridos e a presença da inoculação. O ADV 9860 PRO2 foi o que apresentou maior MSR na presença da inoculação e maior MFPA na ausência. Verona et al. (2010) relatam que não houve diferença significativa para as variáveis altura, massa seca de parte aérea e massa seca de raiz de plantas de milho inoculadas. Roberto et al. (2010) destaca que a aplicação de diferentes doses de inoculante à base dessa bactéria em milho não promove incrementos na MFR e tampouco no acúmulo de MSPA. Barilli et al. (2011) trabalhando com milho inoculado com *A. brasilense*

obtiveram resultados semelhantes, não apresentando diferenças estatísticas para a MSR e MSPA.

Os dados apresentados na tabela 2 demonstram que na época 2 não ocorrem diferenças significativas entre os híbridos para comprimento de raiz (CR) e altura de planta (AP), porém para diâmetro do colmo (DC), massa fresca de raiz (MFR) e parte aérea (MFPA), massa seca de raiz (MSR) e parte aérea (MSPA) observaram-se diferença significativa entre os híbridos com uso do *A. brasilense*. Jordão et al. (2010) observaram maiores médias dos tratamentos que receberam inoculação de *A. brasilense* via semente do que tratamentos não inoculados.

O CR na época II, não apresentou diferenças significativas entre os híbridos e a presença da inoculação, mas, semelhante à época I pode o ADV 9860 PRO2 foi o que apresentou maior CR na presença da inoculação e o pior desempenho na ausência.

**TABELA 2** – Comprimento de raiz (CR), altura de plantas (AP), diâmetro de colmo (DC), massa fresca da raiz (MFR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA) com e sem inoculação de *Azospirillum brasilense*, plantio em 10/08/2020, Anápolis, GO.

<i>A. brasilense</i> / Época II	CR (cm)		AP (cm)		DC (mm)		MFR (g)									
	com	sem	com	sem	com	sem	com	sem								
KWS 8774 PRO3	50,1	Aa	48,5	Ba	29,8	Aa	29,5	Ab	0,2	Ab	0,2	Aa	1,6	Aa	1,7	Ba
ADV 9860 PRO2	54,1	Aa	45,4	Ba	33,1	Aa	33,5	Aa	0,3	Aa	0,2	Aa	0,4	Ac	0,3	Bb
Bandeirantes	49,3	Aa	44,8	Ba	31,5	Aa	34,0	Aa	0,1	Ab	0,2	Aa	1,2	Ab	1,5	Ba
Teste F interação	0,00	**			0,00	**			0,00	**			0,00	**		
CV(%)	15,36				9,00				25,39				18,69			
<i>A. brasilense</i> / Época II	MFPA (g)		MSR (g)		MSPA (g)											
	com	sem	com	sem	com	sem										
KWS 8774 PRO3	2,3	Ba	3,0	Aa	0,5	Ab	0,6	Bb	0,3	Ab	0,4	Bb				
ADV 9860 PRO2	0,3	Bb	0,3	Ab	1,2	Aa	1,1	Ba	0,8	Aa	0,7	Ba				
Bandeirantes	2,3	Ba	2,9	Aa	0,5	Ab	0,6	Bb	0,3	Ab	0,4	Bb				
Teste F interação	0,00	**			0,00	**			0,00	**						
CV(%)	17,25				34,19				12,9							

\*médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Segundo Saikia et al. (2012), um dos efeitos mais marcantes da inoculação com *A. brasilense* na morfologia das raízes é representado pela proliferação de pelos radiculares, tornando-o mais volumoso e, conseqüentemente, apto a absorver maiores quantidades de água e nutrientes.

Para a AP, também não se observou diferenças estatística entre os híbridos, como na época I, porém observa-se que sem a inoculação o KWS 8774 PRO3 apresenta menor desempenho. Bueno et al. (2015) também não observaram crescimento significativo em altura de parte aérea quando utilizou-se tratamento com bactérias diazotróficas. Não corroborando com o trabalho de Caprio (2017), onde ocorreram diferenças significativas para a altura de planta frente a inoculação.

Para o DC não ocorre diferença estatísticas entre os híbridos e a na presença ou não da inoculação, porém, o híbrido ADV 9860 PRO2 foi o que apresentou maior DC na presença da inoculação, reforçando o observado na época I. Resultados diferentes são sugeridos por Dartora et al. (2013), que evidenciam efeito na inoculação por *A. brasilense* sobre o diâmetro do colmo do milho, proporcionando maior diâmetro em relação a testemunha de 15%, neste trabalho a diferença foi de 38% para o híbrido ADV 9860 PRO2 frente a inoculação.

Para a MFR e MFPA ocorre diferença significativa entre os híbridos e não ocorre diferença entre a presença da inoculação dentro dos híbridos, pode se observar que o híbrido KWS 8774 PRO3 apresentou o melhor desempenho na ausência da inoculação. Morais et al. (2015) relatam que o acúmulo de massas fresca e seca do sistema radicular e seu volume não foram afetados pela inoculação.

Costa et al. (2015) evidenciam que ocorre o acréscimo no acúmulo de massa com inoculação de sementes com *A. brasilense*. Padrão semelhante foi observado para a MSR e MSPA, sendo que ocorre

diferenças estatística entre os híbridos frente a inoculação, o híbrido ADV 9860 PRO2 foi o que apresentou melhor desempenho.

Segundo Tonin (2019), quando comparadas à testemunha, os tratamentos não apresentaram diferença estatísticas na porcentagem de germinação, comprimento de parte aérea, comprimento de raiz e nem massa seca da raiz. Já Reis Junior et al. (2008), comparando dois híbridos de milho, com diferentes doses e inoculação com *A. amazonense* não observaram aumento da MSPA.

Reis (2007), evidenciaram variações de resultados de trabalhos com *Azospirillum* spp. estão ligadas 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 seria importante a contagem do número de células por planta, pois a falta de resultado significativo pode estar relacionada ao não desenvolvimento das bactérias.

## CONCLUSÃO

A inoculação com *Azospirillum brasilense* apresenta eficiência frente aos híbridos de milho utilizado. Sendo que a presença de diferentes tecnologias da semente não teve influência decisiva sobre o desenvolvimento inicial da planta frente a inoculação.

Para o plantio no mês de julho a inoculação influenciou o desempenho nos parâmetros de comprimento de raiz, altura de plantas, diâmetro de colmo e massa seca de raiz.

Para o plantio no mês de agosto a inoculação influenciou o desempenho de comprimento de raiz, diâmetro de colmo, massa seca de raiz e parte aérea.

As variações observadas com a inoculação *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento inicial do

milho devem ser melhor estudadas para a sua melhor elucidação.

## REFERÊNCIAS

- ANDREA, M. C. D. S., BOOTE, K. J., SENTELHAS, P. C., ROMANELLI, T. L. (2018). Variability and limitations of maize production in Brazil: Potential yield, water-limited yield and yield gaps. *Agricultural Systems*, 165, 264-273.
- BARILLI, D. R. Eficiência na inoculação do milho com *Azospirillum* brasileiro em diferentes períodos antes da semeadura. *Cadernos de agroecologia – ISSN 2236 – 7934, Vol 6, N.2, Dez 2011.*
- BUENO, J. C. F.; SOARES, C. R. F. S.; ARISI, A. C. M. Interação entre a bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae* cepa SmR1 e o milho (*Zea mays* L.) cultivar DKB 390 nos estádios iniciais do desenvolvimento vegetal. 2015. Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina.
- CAIRES, E. F.; MILLA, R. Adubação nitrogenada em cobertura para o cultivo de milho com alto potencial produtivo em sistema de plantio direto de longa duração. *Bragantia*, v. 75, n. 1, p. 87-95, 2016.
- CAPRIO, C. H. (2017). Interação de variedades de milho sob inoculação com *Azospirillum* brasileiro em diferentes épocas de semeadura.
- CAVALLET, L. E., PESSOA, A. C. D. S., HELMICH, J. J., HELMICH, P. R., OST, C. F. (2000). Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 4(1), 129-132.
- CICILIATO, A. L., CASIMIRO, E. L. N. Inoculante *Azospirillum* brasileiro via foliar associado a diferentes fertilizantes foliares na cultura do milho. *Revista Cultivando o Saber*, v. 8, n. esp, 2015.
- CHAGAS, J. F. R.; SANTOS, G. R. D.; COSTA, R. V. D.; ALVES, J. F.; NASCIMENTO, I. R. D. Adubação nitrogenada na severidade de doenças foliares, produtividade e respostas bioquímicas em híbridos de milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.17, n.1, p. 1-14, 2018
- COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. S. F.; NAVES, D. C. F.; SANTOS, C. B.; ROCHA, A. F. S. Eficiência de inoculante com *Azospirillum* brasileiro no crescimento e produtividade de milho de segunda safra. *Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia*, v. 45, n. 3, p. 304-311, 2015.
- CUNHA, F. N., DA SILVA, N. F., BASTOS, F. J. D. C., DE CARVALHO, J. J., MOURA, L. M. D. F., TEIXEIRA, M. B.; SOUCHIE, E. L. (2014). Efeito da *Azospirillum* brasileiro na produtividade de milho no sudoeste goiano. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 13(3), 261-272.
- DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; JÚNIOR, A. S. P.; CUZ, L. M.; MENSCH, R. Influência do tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo inoculadas com *Azospirillum* brasileiro. *Scientia Agraria Paranaensis*, 12(3), 175-181. (2013).
- DOBBELAERE, S., VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. (2003). Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical reviews in plant sciences*, 22(2), 107-149.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e Agrotec.*, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.
- FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum* brasileiro. *AMB Express, Heidelberg*, v. 6, n. 3, p.1-13, 2016.
- JORDÃO, L. T.; LIMA, F. F.; LIMA, R. S.; MORETTI, P. A. E.; PEREIRA, H. V.; MUNIZ, A. S.; OLIVEIRA, M. C. N. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum* brasileiro sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. In: FERTBIO, 2010, Guarapari. Anais... Viçosa: SBCS, 2010. 1 CD-ROM.
- LIBÓRIO, P. H., BÁRBARO-TORNELI, I. M., NÓBILE, F. D., ANUNCIACÃO, M., MIGUEL, F., SILVA, J. D. (2016). Inoculação com *Azospirillum* brasileiro associada à adubação nitrogenada reduzida em híbridos de milho. *Nucleus*, 13(2), 241-252.

- MÔRO, G. V., Fritsche-Neto, R. (2015). Importância e usos do milho no Brasil. BORÉM, A.; GALVÃO, JCC; PIMENTEL, MA Milho: do plantio à colheita. Viçosa: Ed. UFV, 9-25.
- PANDOLFO, C. M., VOGT, G. A., BALBINOT JÚNIOR, A. A., GALLOTTI, G. J. M., ZOLDAN, S. R. (2015). Desempenho de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a doses de nitrogênio em cobertura. Embrapa Soja-Artigo em periódico indexado (ALICE).
- PIES, W., WERLANG, T., DA LUZ, A. C. P., AURÉLIO, M. Desenvolvimento inicial da cevada inoculada com *Azospirillum brasilense* em competição com populações de azevém, Agrarian Academy, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.4, n.8; p. 2017
- REVOLTI, L, T, M., Interação genótipo vs formas de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho. 2014.
- REIS, V. M. (2007). Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. Embrapa Agrobiologia-Documentos (INFOTECA-E).
- REIS JUNIOR, F. B. D., MACHADO, C. T. D. T., MACHADO, A. T., SODEK, L. (2008). Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. Revista Brasileira de Ciência do solo, 32(3), 1139-1146.
- ROBERTO, V. M. O., SILVA, C. D., LOBATO, P. N. (2010) Resposta da cultura do milho à aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente. In: 28º Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Goiânia. Anais, Associação Brasileira de Milho e Sorgo. p.2429-2434
- SAIKIA, S. P., BORA, D., GOSWAMI, A., MUDOI, K. D., GOGOI, A. (2012). A review on the role of *Azospirillum* in the yield improvement of non leguminous crops. African Journal of Microbiology Research, 6(6), 1085-1102.
- SILVEIRA, A. P. D.; SALA, V. M. R.; CARDOSO, E. J. B. N.; LABANCA, E. G.; CIPRIANO, M. A. P. Nitrogen metabolism and growth of wheat plant under diazotrophic endophytic bacteria inoculation. Applied Soil Ecology, v. 107, p. 313-319, 2016.
- SIMÃO, E. P. Características agrônômicas e nutrição do milho safrinha em função de épocas de semeadura e adubação. Universidade Federal de São João Del-Rei. Sete Lagoas – MG, 2016.
- SZILAGYI-ZECCHIN, V. J., MARRIEL, I. E., DA SILVA, P. R. (2017). Produtividade de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* em diferentes doses de nitrogênio cultivado em campo no Brasil. Revista de Ciências Agrárias, 40(4), 110-119.
- TEIXEIRA, N. T.; WITT, L.; SILVA FILHO, P. R. R. Microrganismos de regeneração nas propriedades químicas do solo, desenvolvimento e produção de milho. Engenharia Ambiental: pesquisa e tecnologia, v.14, p.72-80, 2017.
- TONIN, J. S. (2019). Influência da inoculação de *Azospirillum brasilense* em diferentes temperaturas na germinação de sementes de milho (*Zea mays*).
- VERONA D.A., DUARTE JUNIOR J.B., ROSSOL C.D., ZOZ T., COSTA A.C.T.; Tratamento de sementes de milho com zeavit®, stimulate® e inoculação com *Azospirillum* sp. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 18., 2010. Goiânia: associação brasileira de milho e sorgo, 2010.
- Zemrany H, Cortet J, Lutz MP, Chabert A, Baudoin E, Haurat J, Maughan N, Félix D, Défago G, Bally R, Moëgne-Loccoz Y (2006) Field survival of the phyto stimulator *Azospirillum lipoferum* crt1 and functional impact on maize crop, biodegradation of crop residues, and soil faunal indicators in a context of decreasing nitrogen fertilization. Soil Biology & Biochemistry, 38:1712-1726.