

INOCULAÇÃO DE ESTIRPES DE *Azospirillum brasilense* ASSOCIADO À FERTILIZAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO MILHO

Leonardo Costa Pereira¹, Marcelo de Lelis Tozoni²

RESUMO

São muitos benefícios relacionados a espécie *Azospirillum brasilense* na agricultura, promovendo ganhos de rendimento em importantes culturas nas mais variadas condições de clima e solo. Além de auxiliar na fixação biológica de nitrogênio, auxilia também no aumento de superfície de absorção de raízes da planta e conseqüentemente no aumento do volume de solo explorado. Sendo o nitrogênio um dos principais nutrientes para aumento de resposta em grãos de milho e influenciador na qualidade de grãos, aumentando sua produtividade. Diante disto o objetivo deste trabalho foi avaliar a contribuição da inoculação da bactéria *Azospirillum* associado a diferentes doses de nitrogênio (N) no rendimento de grãos, no peso de 100 grãos e no fator econômico para a cultura do milho. O experimento foi conduzido em Nova Fátima, Paraná, na safrinha 2017, com delineamento de blocos ao acaso, com 4 tratamentos e 5 repetições, sendo os tratamentos: T0 - sem inoculação e com aplicação de nitrogênio somente semente de base; T1 - inoculação na semente e na folha em V3, sem adubação com nitrogênio; T2 inoculação na semente e aplicação de 150 kg ha⁻¹ de nitrogênio; T3 – inoculação na semente e aplicação de 200 kg ha⁻¹ de nitrogênio. Concluiu-se que a inoculação com *Azospirillum*, das estirpes Abv5 e Abv6 independente do modo de aplicação, via semente ou folha teve resultados positivos ao rendimento de grãos e componentes do rendimento do híbrido de milho AG9000.

Palavras chave: adubação nitrogenada, fixação biológica de nitrogênio, produtividade, *Zea mays* L.

ABSTRACT:

¹Discente do curso de Agronomia da Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral – FAEF
E-mail: leocost44@gmail.com

²Docente do curso de Agronomia da Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral - FAEF
E-mail: mm.tozoni@hotmail.com Marcelo de Lelis Tozoni



There are many benefits related and species *Azospirillum brasilense* in agriculture, promoting yield gains in important crops in the most varied climate and soil conditions. In addition to assisting in the biological fixation of nitrogen, it also assists in the increase of the root absorption surface of the plant and consequently in the increase of the volume of explored soil. Nitrogen is one of the main nutrients to increase response in corn grains and influences grain quality, increasing its productivity. The objective of this work was to evaluate the contribution of the inoculation of the *Azospirillum* bacterium associated to different nitrogen (N) rates on grain yield, weight of 100 grains and the economic factor for maize crop. The experiment was conducted in Nova Fatima, Paraná, in the season 2017, with a randomized block design, with 4 treatments and 5 replicates, being the treatments: T0 - without inoculation and with nitrogen application only basal sowing; T1 - inoculation in seed and leaf in V3, without fertilization with nitrogen; T2 inoculation in the seed and application of 150 kg ha⁻¹ of nitrogen; T3 - inoculation in the seed and application of 200 kg ha⁻¹ of nitrogen. It was concluded that inoculation with *Azospirillum* of Abv5 and Abv6 strains independent of the mode of application via seed or leaf had positive results on grain yield and components of AG9000 corn hybrid yield.

Keywords: Nitrogen fertilizer, biological nitrogen fixation, productivity, Zea mays L

1 INTRODUÇÃO

A importância da cultura do milho no Brasil se dá no âmbito social, econômico e cultural (FANCELLI; DOURADO-NETO, 2000). Fatores ambientais, como baixa fertilidade dos solos, que, em sua maioria, apresentam deficiência de nitrogênio, limitam o desenvolvimento da cultura. De acordo com Fancelli (2003), a deficiência relacionada ao nitrogênio pode reduzir o rendimento em grãos entre 14 e 80%.

Levando em consideração o alto custo econômico e ambiental do processo industrial de fixação do nitrogênio juntamente com o aumento da demanda por alimento, é necessária a incorporação de novas práticas tecnológicas que visem à racionalização do uso de fertilizantes nitrogenados. Uma das alternativas é o uso dos benefícios proporcionados pela associação entre bactérias diazotróficas (fixadoras de nitrogênio) e culturas de grande interesse econômico, como o milho, uma vez que essas



bactérias tem a capacidade de promover o crescimento vegetal e gerar aumentos no desenvolvimento e na produtividade destas culturas (BALDANI et al., 1997).

As bactérias promotoras de crescimento em plantas, colonizam a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas (KLOEPPER et al., 1989; HUERGO et al., 2008), estimulando de diversas maneiras o crescimento vegetal, sendo as mais relevantes na fixação de nitrogênio (HUERGO et al., 2008); amplificação da atividade da enzima redutase do nitrato (CASSÁN et al., 2008a; CASSÁN et al., 2008b); produção de hormônios como auxina, etileno (STRZELCZYK et al., 1994), citocinina (TIEN et al., 1979), giberilina (BOTTINI et al., 1989), e outras moléculas (PERRIG et al., 2007), bem como solubilização de fosfato (RODRIGUEZ et al., 2004) e atuação como controle biológico de patógenos (CORREA et al., 2008). Acredita-se que as bactérias promotoras de crescimento em plantas beneficiam o crescimento das plantas pela combinação destes mecanismos (DOBBELAERE et al., 2003).

As bactérias de vida livre promotoras de crescimento em plantas abrangem o gênero *Azospirillum*, que é encontrado em grande parte da superfície terrestre, podendo ser endofíticas facultativas (HUERGO et al., 2008).

Em 1978, Beijerinck descreveu duas espécies, *Azospirillum lipoferum* e *Azospirillum brasilense* (TARRAND et al., 1978); hoje estão descritas 14 espécies no gênero (HUNGRIA et al., 2010). O interesse se dá pela capacidade que o gênero *Azospirillum* tem em estimular o crescimento e a produtividade de várias espécies de plantas, sendo muitas delas com grande relevância agrônômica e ecológica (BASHAN et al., 2004).

Segundo Barassi et al. (2008) citam que a inoculação com *Azospirillum brasilense*, beneficia os parâmetros fotossintéticos (teores de clorofila; condutância estomática), maiores teores de prolina, de água do apoplasto, bem como melhoria no potencial hídrico, maior elasticidade da parede celular, maior produção de biomassa e maior altura de plantas. Bashan et al. (2006) observaram um aumento de pigmentos fotossintéticos (clorofila a; clorofila b), e pigmentos fotoprotetivos auxiliares (xantinas, luteína e beta-caroteno) que sucederiam em plantas com ausência de estresse hídrico e mais verdes.

Para atingir altos rendimentos nos cultivos de cereais, como do milho, é fundamental o uso de grandes quantidades de fertilizantes, principalmente nitrogenados. Segundo Boddey; Döbereiner (1995) as bactérias do gênero *Azospirillum* associadas à rizosfera das plantas contribuem com a nutrição de nitrogênio das mesmas. A



otimização dessa possível simbiose entre *Azospirillum* e milho pode resultar em incrementos de produtividade e em diminuição dos custos de produção, pela redução do uso de adubos nitrogenados (OKON; VANDERLEYDEN, 1997) o mais utilizado na cultura do milho.

Estes estudos resultaram na autorização pelo MAPA das estirpes de *A. brasilense* Ab-V4, Ab-V5, Ab-V6 e Ab-V7 para a produção de inoculantes para gramíneas. Foram observados incrementos no rendimento de grãos de milho de 662 a 823 kg ha⁻¹, ou seja, 24% a 30% em relação ao controle não inoculado (EMBRAPA, 2011).

Diante destes fatos, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da inoculação do produto comercial Masterfix® Gramíneas à base da bactéria *Azospirillum brasilense* na presença e ausência de adubação nitrogenada e redução da dose de nitrogênio por cobertura.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 Material e métodos

O experimento foi conduzido a campo, em um solo classificado como Latossolo Vermelho Eutrófico (EMBRAPA, 2013), no Município de Nova Fátima, Paraná, situada nas coordenadas geográficas 23° 26' 47'' de Latitude Sul e 50° 36' 30'' de Longitude Oeste, com altitude de 650 metros. O clima da região é classificado com Cfa, subtropical com temperaturas médias, no inverno de 18°C com verão quente e poucas possibilidades de geadas, permitindo duas safras por ano, (GOLLFARI et al., 1978) e a precipitação média anual é de 1306 mm.

As características químicas do solo foram avaliadas antes da instalação do experimento e obtiveram-se os seguintes resultados: P: 8,18 mg dm⁻³ de P, M.O.: 25,22 g dm⁻³, K:0,53; Ca: 11,64; Mg: 1,96; H+Al: 4,61; Al:0,00; SB:14,13; CTC18,74 cmol dm⁻³ saturação de bases (V%): 75%. A área vem sendo cultivada em sistema plantio direto, há 14 anos.

O teste foi por delineamento experimental de blocos ao acaso com cinco repetições, sendo os tratamentos: T0 - sem inoculação e com aplicação de nitrogênio somente semeadura de base; T1 - inoculação na semente e na folha em estágio V3, sem adubação com nitrogênio; T2 - inoculação na semente e aplicação de 150 kg ha⁻¹ de nitrogênio; T3 – inoculação na semente e aplicação de 200 kg ha⁻¹ de nitrogênio. Para o fornecimento de nitrogênio em cobertura foi utilizado o fertilizante ureia (45% de N),



aplicada em cobertura a lanço no estádio V4, antes de chuva de 19 mm, o que ocorreu 30 dias depois da emergência. As parcelas apresentaram 6x6m, sendo considerados como área útil os 2 metros quadrados centrais.

Foi utilizado o híbrido de milho AG 9000 VT PRO3 (híbrido simples, superprecoce, grão duro, amarelo, transgênico) da empresa Agrocere Monsanto®, escolhido em função de ocupar áreas comerciais na região, e oportuno para testar a especificidade das estirpes constituintes do inoculante.

A adubação de semeadura foi correspondente a 40 kg ha⁻¹ de N 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 70 kg ha⁻¹ de K₂O. O controle de plantas daninhas foi realizado com aplicações de herbicidas em pós-emergência, foi utilizado Atrazina®, seletivo e de ação sistêmica, na dose de 6 L ha⁻¹. Para a aplicação de inseticida utilizou-se o BELT® produto de contato na dose de 0,15 L ha⁻¹ e o Connect®, produto sistêmico na dose de 0,75 L ha⁻¹. Não foi necessário o uso de fungicida.

O inoculante líquido utilizado foi o Masterfix® Gramíneas a base de *Azospirillum brasilense* das estirpes Abv5 e Abv6, da empresa Stoller. Para a inoculação nas sementes aplicou-se a dose recomendada para a cultura do milho de 100 ml ha⁻¹. O processo de inoculação foi realizado imediatamente antes da semeadura, sendo o inoculante adicionado em conjunto com 5 l de água para uniformizar a inoculação. A pulverização na fase inicial V3, recomendada pelo fabricante, foi realizada via foliar somente no T1 (dose 200 ml ha⁻¹), utilizando do mesmo produto com um volume de calda de 100 L ha⁻¹.

Foi avaliada a produtividade dos tratamentos e massa de 100 grãos, além dos aspectos econômicos. A colheita foi realizada manualmente quando os grãos apresentavam em torno de 24% de umidade. Após a colheita, o milho foi trilhado para obtenção da massa de grãos por parcela (2 m²), em seguida os tratamentos foram pesados e os resultados transformados em kg ha⁻¹. Também foi realizada a determinação da massa de 100 grãos. A umidade dos grãos de cada parcela foi corrigida para 13%.

Aos resultados finais foram aplicados testes estatísticos para analisar a variância, e posteriormente foi realizado o teste Tukey a 5%, para comparação de médias.

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados da Tabela 1, foi observado efeito positivo tanto das doses de nitrogênio quanto da inoculação de *Azospirillum* via semente e foliar sobre a produtividade do milho na safrinha 2017. Analisando os resultados foi possível



verificar que os tratamentos T3; T1 e T2 apresentaram resultados semelhantes estatisticamente, diferindo do tratamento T0.

Tabela 1. Produtividade Kg/ha⁻¹ do milho Híbrido AG 9000 VTPRO3, safrinha 2017, Nova Fátima, PR.

| TRATAMENTOS ha ⁻¹ | Médias signif. Kg/ |
|---------------------------------|--------------------|
| T0 TESTEMUNHA | 3.587,45 b |
| T1 INOCULADO + V3 | 5.470,33 a |
| T2 IS+ 150 kg/ha-1 | 5.470,14 a |
| T3 IS + 200 Kg/ ha-1 | 6.090,31 a |

OBS: letras iguais indicam que, no nível 5% de significância, não há diferenças entre as médias.

Os resultados (Tabela 1) demonstram que existe interação entre o híbrido e as estirpes de *Azospirillum* utilizadas, além de demonstrar o efeito de inoculações realizadas via foliar/solo. A inoculação apresentou bons resultados, com níveis próximos a maior adubação de cobertura de 200 kg ha⁻¹ e resultado maior que o tratamento T2 com 150 kg ha⁻¹.

Tabela 2. Massa de 100 grãos de milho Híbrido AG 9000, safrinha 2017, Nova Fátima, PR.

| TRATAMENTOS | Médias signif. g |
|----------------------|------------------|
| T0 TESTEMUNHA | 33,74g c |
| T1 INOCULADO + V3 | 35,59g bc |
| T2 IS+ 150 kg/ha-1 | 39,18g ab |
| T3 IS + 200 Kg/ ha-1 | 39,73g a |

OBS: letras iguais indicam que, no nível 5% de significância, não há diferenças entre as médias.



Na tabela 2 é possível verificar que a aplicação de N aumentou a massa de 100 grãos. Fica evidente que a adubação nitrogenada aumenta a massa de 100 grãos.

Atualmente a ureia é o adubo nitrogenado mais utilizado, e o seu valor de mercado está em torno de R\$ 1.224,00 a tonelada (preço médio), sem a taxa de frete. No tratamento T3 foram utilizados 200 kg ha⁻¹ de N de ureia equivalente a R\$ 244,8 por ha⁻¹. Já no tratamento T1 se utilizou apenas 300 ml ha⁻¹ do inoculante Masterfix gramíneas®, com valor de mercado em média de 1,5 L por R\$ 150,00.

Considerando o preço médio da saca de milho em R\$ 22,00, e comparando a produtividade superior de 10,33 sacas do tratamento equivalente a aproximadamente R\$ 227,26 em relação ao tratamento T1, em que somente foi gasto R\$ 30,00 por hectare, é possível estimar uma economia de aproximadamente R\$ 77,26 por hectare ao optar pelo tratamento T1. Mesmo verificando que o T1 foi menos produtivo que o T3, o seu custo de produção foi inferior, proporcionando ao produtor maior rentabilidade.

Segundo Cavallet et al. (2000), em experimentos realizados no Paraná, quando se inocula sementes com *Azospirillum* associado a adubações de cobertura, pode-se proporcionar em algumas variedades de milho, um aumento de 17% na produção em kg ha⁻¹. Segundo Campos et al. (2000), a inoculação de *Azospirillum* em sementes não é eficiente se não houver estirpes adaptadas para cada região em termos de clima, sistemas de manejo e cultivares, por não incrementar o rendimento de grãos.

Outro fator de importância para o sucesso da inoculação com *Azospirillum* é a escolha da estirpe bacteriana, pois há uma afinidade entre estirpes e espécies de plantas, até mesmo de cultivares (PENOT et al. 1992 apud HUNGRIA et al., 2010). Porém, outros autores não concordam e mostram que ao contrário, não há preferência das estirpes de *Azospirillum* por algumas espécies de plantas específicas, pois *Azospirillum* é um colonizador geral de raízes e não uma bactéria específica (BASHAN, HOLGUIN, 1997).

O híbrido P30F53 HX inoculado com *A. brasilense* produziu 58 kg ha⁻¹ a mais de que outros seis híbridos não inoculados ou inoculados com a bactéria *Azospirillum* na região de Guarapuava, PR, porém não houve diferenças estatísticas da testemunha, do mesmo modo que em resposta a inoculação outros híbridos foram melhores (KAMINSKI et al., 2011). Porém, quando foi realizada a inoculação sem aplicação de N na base, o P30F53 HX, houve economia de nitrogênio de até 95 kg ha⁻¹, verificando



um incremento significativo de 14,98% na produtividade (SANDINI & NOVAKOWISKI 2011).

Segundo Bartchen et al. (2010), mesmo a testemunha apresentando menor incremento de produtividade comparado ao milho inoculado com *Azospirillum*, não proporciona valores maiores quando o nitrogênio é aplicado em cobertura. Outros autores afirmam que o fato da inoculação com *Azospirillum* não apresentar resultados significativos estatisticamente, é que está relacionado aos números de fatores que influenciam o processo de interação entre planta e bactéria, sendo os principais as condições edafoclimáticas, escolha da estirpe, interação entre a planta e a bactéria (QUADROS, 2009).

Segundo FERREIRA et al., (1997), folhas bem nutridas de nitrogênio tem a maior capacidade de assimilar CO₂ e assimilar carboidratos durante a sua fotossíntese, fator que resulta em maior acúmulo de biomassa e rendimento de grãos. JORDÃO et al. (2010), também observou significativas diferenças entre tratamentos em relação ao teor de clorofila nas folhas de milho, pois concluiu que as médias de clorofila total dos tratamentos que receberam inoculação com *Azospirillum* foram maiores do que os tratamentos não inoculados.

Há resultados positivos e negativos quanto ao uso da inoculação com *Azospirillum*, porém estudos mostram que a utilização da bactéria isolada não teve efeito no rendimento de matéria seca, mas quando houve combinação com nitrogênio a produção de matéria seca aumentou significativamente (BASHAN, HOLGUIN, 1997). Segundo GARCÍA, OLIVARES et al. (2006), testando diversas estirpes de *Azospirillum*, observaram um incremento na biomassa de grãos, devido às condições climáticas favoráveis durante a colonização das estirpes, a inconsistência de resultados se deve a diversos fatores que são difíceis de identificar.

A inoculação desta bactéria pode ser realizada de forma sólida como turfa ou na forma líquida. Tomando cuidado para que não seja deixado ao sol e também não seja aplicada junto com agroquímicos, uma vez que são microrganismos vivos (HUNGRIA et al., 2010). A inoculação geralmente é feita via sementes, pelo fato do indispensável tratamento de sementes e da comodidade quando este é feito industrialmente. A inoculação via sulco de semeadura vem sendo pesquisada como uma forma de evitar a toxidez dos produtos utilizados no tratamento de sementes sobre a bactéria, uma vez que alguns produtos químicos podem danificar o flagelo usado pela *Azospirillum brasilense* na associação com a planta (CROES et al., 1993). Um estudo realizado por BASI et al.



(2011) mostraram que a inoculação via sulco não diferiu da realizada nas sementes, a aplicação de *Azospirillum brasilense* (Abv5 e Abv6) continuou aumentando a produtividade do milho.

3 CONCLUSÃO

Com base nos experimentos realizados a campo, pode-se concluir que a inoculação de *Azospirillum*, em sementes influencia positivamente o rendimento da produtividade e aumento da massa de grãos de milho do híbrido de milho AG9000 VT PRO3.

A inoculação de *Azospirillum* gera mais lucro devido à diminuição dos custos com fertilizantes nitrogenados, também houve uma semelhança estatística entre o T1 e T3, evidenciando que a inoculação é eficiente, porém a adubação nitrogenada em cobertura é ainda o indicado a ser feito, mas a inoculação é um incremento que o produtor rural pode estar incorporando para novas práticas tecnológicas que visem à racionalização do uso de fertilizantes nitrogenados.

4 REFERÊNCIAS

BALDANI, V.L.D.; OLIVEIRA, E.; BALOTA, E.; BALDANI, J.I.; KIRCHHOF, G. & DÖBEREINER, J. *Burkholderia brasilensis* sp. nov., **uma nova espécie de bactéria diazotrófica endofítica**. An. Acad. Bras. Ci., 69:116, 1997.

BARASSI, C.A.; SUELDO, R.J.; CREUS, C.M.; CARROZZI, L.E.; CASANOVAS, W.M.; PEREYRA, M.A. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. P.49-59.

BARTCHEN, A.; FIORI, C.C.L.; WATANABE, S.H.; GUARIDO, R.C. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* na produtividade do milho (*Zea mays*). **Revista Campo Digit@l**, v.5, n.1, p.56-59, 2010. ISSN 1981-092X.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum* plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v.50, p.521-577, 2004.



BASI, S.; LOPES, E.C.P.; KAMINSKI, T.H.; PIVATTO, R.A.D.; CHENG, N.C.; SANDINI, I.E. *Azospirillum brasilense* nas sementes e no sulco de semeadura da cultura do milho. In.: Semana de Integração, Ensino, Pesquisa e Extensão, 2. **Resumos...** Guarapuava: Anais da II SIEPE, 2011. 4p. ISSN-2236-7098

BODDEY, R.M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent progress and perspectives for the future. **Fertilizer Research**, Oxford, v. 42, p. 241-250, 1995.

BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R. Identification of gibberelins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *A. lipoferum*. **Plant Physiology**, v.90, p.45-47, 1989.

CAMPOS, B.C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. **Avaliação do inoculante “Graminante” na cultura de milho.** *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 30, n. 4, p. 713-715, 2000

CASSÁN, F.; SGROY, V.; PERRIG, D.; MASCIARELLI, O.; LUNA, V. Producción de fitohormonas por *Azospirillum sp.* Aspectos fisiológicos y tecnológicos de la promoción del crecimiento vegetal. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum sp.***: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008.

CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum sp.***: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. 268 p.

CAVALLET, L.E.; PESSOA, A.C. S.; HELMICH, J.J.; HELMICH, P.R.; OST, C.F. produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum sp.* **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 129-132, 2000.

CHENG, N.C.; NOVAKOWISKI, J. H.; SANDINI, I.; DOMINGUES, L. Substituição da adubação nitrogenada de base pela inoculação com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. In.: Seminário Nacional de Milho Safrinha, 11. **Anais...** Lucas do Rio Verde: Fundação Rio Verde. p.377-382, 2011.

CORREA, O.S.; ROMERO, A.M.; SORIA, M.A.; DE ESTRADA, M. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum sp.***: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.87-95.

CROES, C.L.; MOENS, S.; VAN BASTELAERE, E.; VANDERLEYDEN, J.; MICHIELS, K.W. The polar flagellum mediates *Azospirillum brasilense*



adsorption to wheat roots. **Journal of General Microbiology**, v.139, p.2261-2269, mar. 1993.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.22, p.107- 149, 2003.

DÒBEREINER, J.; BALDANI, I. J. Bases científicas para uma agricultura biológica. **Ciência e Cultura**, v. 34, p. 869-881, 1982.

EMBRAPA – **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3º Ed. rev. Ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2013.

FANCELLI, A. L. Milho: ambiente e produtividade. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D., eds. Milho: **Estratégias de manejo para alta produtividade**. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003.

FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D. Produção de milho. Guaíba, **Agropecuária**, 2000. 360p.

FERREIRA, A. C. B. **efeitos da adubação de N, Mo, Zn sobre a produção, qualidade de grãos e concentração de nutrientes no milho**. 1997. Tese (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997. 72 p.

GARCÍA-OLIVARES, J. G.; MORENO-MEDINA, V. R.; RODRÍGUEZ-LUNA, I. C.; MENDOZA-HERRERA, A.; MAYEK-PÉREZ, N. **Biofertilización con Azospirillum brasilense en sorgo**, en el norte de México. *Agricultura técnica en México*, v. 32, n. 2, p. 135-141, 2006.

GOLFARI, L.; CASER, R. L.; MOURA, V.P.G. **Zoneamento ecológico esquemático para reflorestamento no Brasil**. Belo Horizonte: Centro de Pesquisa Florestal da região do Cerrado. PNUD/FAO/IBDF/BRA-45. Série Técnica no. 11. 1978.

HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R.A.; BONATTO, A.C.; RIGO, L.U.; STEFFENS, M.B.R.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Regulação da fixação de nitrogênio em *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. **Azospirillum sp.**: Fisiologia celular, as interações de plantas e pesquisa agrônômica na Argentina. Associação Argentina de Microbiologia, Argentina, 2008.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v.331, n. 1-2, p.413-425, 2010.

HUNGRIA, M. *Inoculação com Azospirillum brasilense: inovação em rendimento a baixo custo*. Londrina: **Embrapa Soja**, 2011. 36 p. (Documentos, n. 325)



JORDÃO, L. T.; LIMA, F. F. de; LIMA, R. S.; MORETTI, P. A. E. M.; PEREIRA, H.V.; MUNIZ, A. S.; OLIVEIRA, M. C. N. de. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. In: **REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 29.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 13.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 11.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 8.**, 2010, Guarapari. Fontes de nutrientes e produção agrícola: modelando o futuro: anais. Viçosa: SBCS, 2010. 4 p.

KLOPPER, J.W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R.M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**. v.7, 1989.

PERRIG, D.; BOIERO, L.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; CASSÁN, F.; LUNA, V. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.75, 2007.

QUADROS, P. D. **Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul.** 2009. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants, **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v.63, n.7, p.366-370, 1997.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. *Naturwissenschaften*, v.91, p.552-555, 2004.

STRZELCZYK, E.; KAMPER, M.; LI, C. Cytocinin-like-substances and ethylene production by *Azospirillum* in media with different carbon sources. **Microbiological Research**, v.149, p.55-60, 1994.

TARRANT, J.J.; KRIEG, N R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v.24, p.967-980, 1978.

TIEN, T.M.; GASKINS, M.H.; HUBBELL, D.H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v.37, 1979.