

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
REGIONAL JATAÍ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO SEGUNDA
SAFRA EM FUNÇÃO DA CULTURA ANTECESSORA E
MÉTODOS DE INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense***

Alex Oliveira Smaniotto
Engenheiro Agrônomo

JATAÍ – GOIÁS – BRASIL
Julho de 2019



**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Nome completo do autor: Alex Oliveira Smaniotto

Título do trabalho: DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO SEGUNDA SAFRA EM FUNÇÃO DA CULTURA ANTECESSORA E MÉTODOS DE INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense*.

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 10/ 08 /2019

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
REGIONAL JATAÍ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO SEGUNDA
SAFRA EM FUNÇÃO DA CULTURA ANTECESSORA E
MÉTODOS DE INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense***

Alex Oliveira Smaniotto

Orientador: Prof. Dr. Simério Carlos Silva Cruz
Co-orientador: Prof. Dr. Cláudio Hideo Martins da Costa

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal)

JATAÍ – GOIÁS – BRASIL
Julho de 2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Oliveira Smaniotto, Alex
DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO SEGUNDA SAFRA EM
FUNÇÃO DA CULTURA ANTECESSORA E MÉTODOS DE
INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* [manuscrito] / Alex
Oliveira Smaniotto. - 2019.
8, 63 f.

Orientador: Prof. Dr. Simério Carlos Silva Cruz; co-orientador
Cláudio Hideo Martins da Costa .
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Unidade
Acadêmica Especial de Ciências Agrárias, Programa de Pós
Graduação em Agronomia, Jataí, 2019.

1. bactérias diazotróficas. 2. fixação biológica. 3. produtividade de
grãos. I. Carlos Silva Cruz, Simério , orient. II. Título.

CDU 631/635



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO - REGIONAL JATAÍ

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº **010/2019-PPGA** da sessão de Defesa de Dissertação de **ALEX OLIVEIRA SMANIOTTO** que confere o título de Mestre(a) em **AGRONOMIA**, na área de concentração em **Produção Vegetal**

Ao décimo dia do mês de julho de dois mil e dezenove, a partir das 08h00, no auditório do Prédio da Pós-graduação da Universidade Federal de Goiás - Regional de Jataí, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada **“DESEMPENHO AGRÔNOMICO DO MILHO SEGUNDA SAFRA EM FUNÇÃO DA CULTURA ANTECESSORA E MÉTODOS DE INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense*”**. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Professor Doutor Simério Carlos Silva Cruz (CIAGRA/UFG) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professora Doutora Jaqueline Fátima Rodrigues (CIAGRA/UFG), membro titular externo; Doutor Jeander Oliveira Caetano (Assistec Agrícola/Jataí-GO), membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca **não fizeram** sugestão de alteração do título do **trabalho**. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação tendo sido o candidato **aprovado** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Professor Doutor Simério Carlos Silva Cruz, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, ao décimo dia do mês de julho de dois mil e dezenove.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Não houve alteração do título.



Documento assinado eletronicamente por **Simério Carlos Silva Cruz, Professor do Magistério Superior**, em 10/07/2019, às 10:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Jaqueline Fatima Rodrigues, Professora do Magistério Superior**, em 10/07/2019, às 10:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Jeander Oliveira Caetano, Usuário Externo**, em 10/07/2019, às 10:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0756625** e o código CRC **2D389B34**.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ALEX OLIVEIRA SMANIOTTO – Nascido em Luciara-Mato Grosso, graduado em Agronomia no ano de 2013 pela UNEMAT – Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Nova Xavantina. Possui pós-graduação Lato sensu em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas pelo Instituto de pós-graduação e Extensão de Mato Grosso, concluído em 2016. Iniciou o curso de Pós-graduação Stricto sensu em nível de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, com linha de pesquisa em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, na UFG – Universidade Federal de Goiás em agosto de 2017.

DEDICATÓRIA

A minha mãe, avó e a minha namorada Bruna, por todo apoio.

Dedico.

A meu pai Aristeu e a meu avô Antônio “*in memoriam*”.

Ofereço.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus.

Agradeço aos meu pais.

A minha namorada Bruna por estar ao meu lado em todos os momentos.

Ao meu orientador Professor Dr. Simério Carlos Silva Cruz e co-orientador Professor Dr. Cláudio Hideo Martins da Costa, pelo exemplo de profissional e pessoa, assim como por todo ensinamento, paciência, honestidade e dedicação com a pesquisa.

A todos os professores do programa de pós-graduação e graduação em agronomia, que contribuíram de alguma forma.

Aos colegas de equipe Magno, Juliano, Júlio César, Júlia, Flávia e Stefanny pelo o apoio.

Aos amigos de pós-graduação João Pedro, Ingrid, Fabiana, Mirelle, Rogério, Givanildo pela parceria e companheirismo.

Ao Núcleo de Pesquisa Agrônômica (NPA) e ao pessoal da fazenda experimental da UFG.

A CAPES pelo suporte financeiro através da concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS	2
1.1 Cultura do milho	2
1.2 Fixação biológica de nitrogênio e os métodos de inoculação na cultura do milho	3
1.3 Culturas antecessoras.....	6
2. Referências	9
3. CAPÍTULO II - DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO SEGUNDA SAFRA EM FUNÇÃO DA CULTURA ANTECESSORA E INOCULAÇÃO COM <i>Azospirillum brasilense</i>.....	17
3.1 Introdução	19
3.2 Material e Métodos.....	21
3.2.1 Localização e caracterização da área experimental.....	21
3.2.2 Tratamentos e delineamento experimental	22
3.2.3 Etapa I: safra verão	22
3.2.4 Etapa II: segunda safra	26
3.2.5 Análise estatística	28
3.3 Resultados e Discussão	29
3.4 Conclusões.....	40
3.5 Referências	41
4. CAPÍTULO III - DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO SEGUNDA SAFRA EM FUNÇÃO DOS MÉTODOS DE INOCULAÇÃO COM <i>Azospirillum brasilense</i>.....	46
4.1 Introdução	48
4.2 Material e Métodos.....	50
4.2.1 Localização e caracterização da área experimental.....	50
4.2.2 Tratamentos e delineamento experimental	51
4.2.3 Análise estatística	53
4.3 Resultados e Discussão	54
4.4 Conclusões.....	59
4.5 Referências	60

1. CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 Cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) pertence à família Poaceae, é uma planta monocotiledônea, anual, monoica, de metabolismo C4, sendo uma das mais eficientes plantas armazenadoras de energia existentes na natureza (MAGALHÃES et al., 2002; BERNARDON, 2005).

De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (2017), a produção mundial de milho, no ano agrícola 2016/17 atingiu 1,075 bilhões de toneladas. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial, com produção estimada de 93,8 milhões de toneladas, sendo o milho segunda safra responsável por 71,53% desta produção. O estado de Goiás é o quarto maior produtor nacional de milho segunda safra (7,261 mil toneladas), com produtividade média de 6.000 kg ha⁻¹ (CONAB, 2018).

A produção de milho nas últimas décadas, cresceu significativamente, em relação às décadas anteriores, e dentre os fatores que mais tem afetado a produtividade do milho, destacam-se a cultivar, o solo, a adubação, o clima, as práticas culturais e a incidência de pragas e doenças (AMADO et al., 2002; FORNASIERI FILHO, 2007; OKUMURA et al., 2011).

Para atingir elevadas produtividades, o milho necessita ter suas exigências nutricionais plenamente satisfeitas, de forma a atender a grande demanda de nutrientes (SOUSA et al., 2003a; SOUSA et al., 2003b). O nutriente mais exigido para esta cultura é o nitrogênio, pois é o que mais influencia a produtividade (FORNASIERI FILHO, 2007; GOMES et al., 2007) e o que mais onera no custo de produção (MÜLLER, 2013; KAPPES et al., 2014).

O nitrogênio é um elemento essencial no metabolismo das plantas, sendo constituinte de muitos compostos, incluindo todas as proteínas, aminoácidos, ácidos nucléicos, amidas, nucleotídeos e coenzimas (TAIZ & ZEIGER, 2006). O fornecimento adequado de nitrogênio às plantas, melhora a qualidade dos produtos agrícolas, porém, seu excesso, pode ser prejudicial (CARDOSO et al., 2012).

A utilização racional dos fertilizantes agrícolas principalmente o nitrogenado, vem adquirindo importância crescente, devido ao elevado custo econômico e

32 ambiental do processo industrial de fixação, aliado ao aumento da demanda por
33 alimentos. Com isso surge a necessidade de se incorporar, à atividade agrícola, novas
34 tecnologias que visem à racionalização do uso de fertilizantes nitrogenados
35 (DARTORA et al., 2013).

36

37 **1.2 Fixação biológica de nitrogênio e os métodos de inoculação na** 38 **cultura do milho**

39

40 As pesquisas relacionadas a utilização de *Azospirillum* na cultura do milho vêm
41 aumentando a cada ano e os resultados ainda são bastante controversos quanto aos
42 ganhos proporcionados à essa cultura. A grande variabilidade de resultados se deve
43 principalmente, aos fatores como a cultivar, comunidade microbiana no solo,
44 características genéticas das estirpes, disponibilidade de N no solo, resíduos vegetais
45 depositados no solo pela cultura antecessora em sistema plantio direto e formas de
46 aplicação da *Azospirillum* (ROESCH et al., 2007; BRANCCINI et al., 2012; QUADROS
47 et al., 2014).

48 Tem-se observado que cada híbrido apresenta uma resposta diferente para
49 inoculação, sugerindo que dependendo do genótipo do milho, o benefício da
50 inoculação pode ser observado em diferentes partes da planta como grãos, parte
51 aérea ou colmo (QUADROS et al., 2014). Ainda neste sentido, existe uma grande
52 variação quanto à eficiência das estirpes utilizadas, sendo necessário a seleção de
53 estirpes adaptadas às condições edafoclimáticas locais, aos híbridos utilizados e ao
54 próprio sistema de manejo (KAPPES et al., 2013a; KAPPES et al., 2017).

55 Outro fator determinante no aumento da eficiência da relação bactéria x planta
56 é a forma de aplicação do *Azospirillum brasilense* no milho, que pode ser: a) via
57 inoculação das sementes; b) no sulco de semeadura ou c) via foliar.

58 Para efetuar a aplicação do *Azospirillum brasilense* no milho via inoculação das
59 sementes, são utilizados tambor rotatório, máquina de tratamento de sementes ou
60 outros mecanismos, com o intuito de melhorar a cobertura, aderência e uniformidade
61 da distribuição do inoculante. A vantagem desse método deve-se principalmente, ao
62 fato da bactéria diazotrófica ficar intimamente aderida às sementes, facilitando a
63 relação associativa na região da rizosfera, favorecendo sua multiplicação e seu
64 estabelecimento próximo das raízes, o que é imprescindível para uma boa interação.
65 Porém, como no tratamento de sementes não há apenas a adição do inoculante, mas

66 também de inseticidas, fungicidas, dentre outros produtos fitossanitários, que muitas
67 vezes prejudicam o desenvolvimento dos microrganismos, podendo reduzir o número
68 de células viáveis comprometendo assim a inoculação (BALDANI et al., 1986;
69 KAPPES et al., 2017).

70 Trabalhando com sementes de milho inoculadas com *Azospirillum*, Garcia et al.
71 (1991), verificaram aumento de matéria seca de raiz e da parte aérea, enquanto
72 Salomone & Döbereiner (1996) avaliando a resposta de vários genótipos de milho à
73 inoculação de quatro estirpes de *Azospirillum* Spp. isoladas na Argentina e três
74 isoladas de raízes de sorgo e milho no Brasil, constataram aumento no peso de grãos.

75 Para Radwan et al. (2004) e Moreira et al. (2010), os incrementos verificados
76 no diâmetro basal do colmo e no acúmulo de matéria seca das plantas submetidas à
77 inoculação podem ser associados à produção de fito-hormônios pelas bactérias, como
78 auxinas, giberelinas e citocininas.

79 Didonet et al. (1996) afirmam que existem várias evidências de que sementes
80 de milho inoculadas com *Azospirillum brasilense* sejam responsáveis pelo aumento e
81 acúmulo de matéria seca, o que pode ter relação com o aumento das atividades das
82 enzimas fotossintéticas de assimilação de nitrogênio.

83 Cavallet et al. (2000), usaram sementes de milho inoculadas com bactérias
84 *Azospirillum* spp e verificaram aumento na produtividade média de 17%, assim como
85 no comprimento médio das espigas.

86 Em 273 experimentos na Argentina com a inoculação de *Azospirillum* em
87 sementes de trigo, houve aumento médio de 256 kg ha⁻¹ em 76% dos ensaios.
88 Resultados similares ocorreram com o milho: 85% dos casos responderam
89 positivamente à inoculação via sementes com incremento da produtividade média de
90 472 kg ha⁻¹ (ZORITA & CANIGIA, 2008).

91 Hungria (2011) conduziu em Londrina e Ponta Grossa (PR), oito ensaios com
92 milho com as estirpes A bV5 e A bV6 da *Azospirillum brasiliense* via tratamento de
93 sementes. As estirpes mostraram-se promissoras porque se obteve aumento médio
94 na produtividade de 26%. A *Azospirillum brasilense* aplicada nas sementes
95 incrementou a produtividade do milho verde em 30% em relação ao tratamento
96 controle, em experimento conduzido em Teresina - PI (ARAÚJO et al., 2014).

97 A inoculação via sulco é realizada na ocasião da semeadura, pulverizando o
98 fundo do sulco com o inoculante diluído em água, na mesma operação de distribuição
99 da semente, no momento da implantação da cultura.

100 As vantagens desse método ficam mais evidentes em condições adversas,
101 como solos secos e quentes ou sementes tratadas com produtos deletérios às
102 bactérias, pois diminui o contato direto das estirpes com os inseticidas e fungicidas
103 utilizados no tratamento de semente (RAMOS & RIBEIRO, 1993). Porém, sua
104 desvantagem está relacionada a redução do contato da bactéria com a semente para
105 o estabelecimento da relação associativa.

106 Müller et al. (2016), trabalhando com 2 métodos de inoculação (tratamento de
107 sementes, sulco de plantio e controle não inoculado) e doses de nitrogênio (0, 75, 150,
108 225 e 300 kg ha⁻¹), concluíram que a inoculação com a bactéria proporcionou
109 incremento na produtividade de milho de 702 kg ha⁻¹ para inoculação no sulco de
110 semeadura quando comparado ao tratamento controle sem inoculação.

111 Como as bactérias do gênero *Azospirillum* são diazotróficas endofíticas
112 facultativas, a inoculação via pulverização foliar torna-se uma alternativa. Nesse
113 método, a pulverização da cultura com a bactéria normalmente acontece entre os
114 estádios vegetativos onde a planta de milho se encontra com três, quatro, cinco ou
115 seis folhas completamente expandidas (V3, V4, V5 e V6, respectivamente). Isto é
116 possível devido ao fato de que quando essas bactérias são aplicadas nas folhas elas
117 ficam alojadas na bainha e posteriormente com as chuvas podem ser carreadas para
118 o colmo e solo, entrando em contato com as raízes.

119 A desvantagem desse método está relacionada ao período em que ocorrerá a
120 relação associativa, onde muitas vezes as plantas não terão tempo suficiente para
121 expressar o efeito da inoculação (COSTA et al., 2015), pois para o milho, o potencial
122 de produção é definido precocemente, ou seja, por ocasião da emissão da 4^a folha,
123 podendo se estender até a 6^a folha, principalmente em função da natureza protândrica
124 dos principais genótipos utilizados no Brasil (FANCELLI & DOURADO NETO, 2000).

125 Os resultados encontrados por Kappes et al. (2013b), confirmam a
126 desvantagem da aplicação via foliar em estágio fenológico mais avançado da cultura
127 do milho. Esses autores, trabalhando com inoculação via foliar de *Azospirillum*
128 *brasiliense*, aplicado no estágio fenológico V5 e doses de N em cobertura (0, 30, 60,
129 90 e 120 kg ha⁻¹, via ureia), concluíram que a aplicação foliar da bactéria não
130 proporcionou benefícios para o desenvolvimento das plantas, bem como não permitiu
131 incrementos na produtividade de grãos da cultura do milho.

132 Em contrapartida, Portugal et al. (2012) encontraram respostas positivas a
133 aplicação foliar. Ao realizar a aplicação do *Azospirillum brasiliense*, via foliar, quando

134 as plantas de milho se encontravam no estágio fenológico V6, houve incremento de
135 14,75% (868 kg ha⁻¹) na produtividade de grãos de milho quando comparado ao
136 tratamento sem inoculação.

137 Muitas pesquisas, envolvendo a aplicação de *Azospirillum* na cultura do milho,
138 fazem comparação entre as formas de aplicação com o intuito de verificar qual a
139 metodologia mais eficiente ou mesmo a interação da forma de aplicação com outras
140 fontes de variação.

141 Sá Júnior (2012) estudando o comportamento do milho em resposta ao modo
142 de aplicação (via sulco de semeadura; na base da planta em V3; via foliar em V6;
143 tratamento de sementes e controle sem inoculação), concluiu que a inoculação com
144 *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes, proporcionou um incremento de
145 6,3% na produtividade de grãos de milho e que as aplicações de inoculante via
146 pulverizações não alteram a produtividade do milho.

147

148 **1.3 Culturas antecessoras**

149

150 Os elevados índices de produtividade de uma cultura e a maior rentabilidade
151 agrícola, dependem fundamentalmente, da capacidade produtiva dos solos (WUTKE
152 et al., 2000). Nesse propósito, a produção de fitomassa com a utilização de plantas
153 de cobertura, é um componente essencial na sustentabilidade dos sistemas
154 produtivos (CARVALHO et al., 2009).

155 De acordo com Andrioli et al. (2008), a produção de fitomassa é uma tecnologia
156 conservacionista, imprescindível para o sistema produtivo, pois tem por finalidade
157 melhorar a fertilidade, aumentar a infiltração e disponibilidade de água para as plantas,
158 minimizar os impactos ao ambiente, além de proteger o solo da erosão.

159 Segundo Teixeira et al. (2008), o sucesso na implantação e no estabelecimento
160 do sistema de plantio direto (SPD) está fortemente relacionado com a alta produção
161 de fitomassa. A adoção do SPD se consolidou como uma tecnologia conservacionista
162 (GARCIA, 2017), no qual realiza-se a rotação de culturas, mesclando-se culturas
163 comerciais como a soja, milho, arroz, feijão e sorgo com adubos verdes, dentre eles
164 a crotalária, mucuna, guandu e milheto, proporcionando recobrimento eficiente do
165 solo, reciclagem de nutrientes e possibilidade de aumentos na produtividade das
166 culturas em sucessão (DONEGA & SANTOS, 2015).

167 A rotação de culturas, tem se destacado por promover melhorias às condições
168 física, química e biológica do solo (CARVALHO et al., 2007), além de ser tornar grande
169 fonte de nutrientes para a cultura subsequente (CAVALLI et al., 2018). Portanto, além
170 da possibilidade de melhoria e/ou conservação das propriedades do solo, as plantas
171 de cobertura promovem consideráveis aumentos de rendimento das culturas
172 subsequentes (CASTOLDI et al., 2010).

173 Segundo Matoso et al. (2015), as características desejáveis para uma espécie
174 vegetal ser utilizada como planta de cobertura, seriam a alta produção de fitomassa
175 com alta taxa de absorção de nutrientes, alta tolerância ao déficit hídrico, pragas e
176 doenças, além de exercer efeito alelopático sobre as plantas daninhas, ser de fácil
177 estabelecimento e controle, possuir baixa taxa de decomposição e ainda possuir alto
178 valor agregado.

179 Várias espécies de plantas podem ser inseridas no SPD, porém, há destaque
180 às leguminosas e gramíneas (FELISBERTO, 2015). Os resíduos de leguminosas têm
181 grande importância como fornecedores de N, pois são capazes de formar associações
182 simbióticas com bactérias fixadoras de N₂ incorporando nitrogênio aos seus tecidos
183 (BELO et al., 2012). Além disso, as leguminosas podem contribuir na diminuição da
184 acidez do solo e da relação C/N da matéria orgânica do solo (HARGROVE, 1986).

185 Em contrapartida, as gramíneas apresentam maior capacidade de produção de
186 matéria seca, rusticidade e eficiência na reciclagem. Os resíduos das gramíneas
187 promovem a melhoria do solo, por possuírem maior conteúdo de lignina, possibilitando
188 o aumento de ácidos carboxílicos e húmicos nos substratos (PRIMAVESI, 1982).

189 Nas gramíneas a velocidade de decomposição é mais lenta, devido a sua alta
190 relação C/N, permanecendo sobre a superfície do solo por um período mais longo,
191 protegendo este das condições ambientais, como a erosão hídrica, que ocasionaria
192 redução da sua capacidade produtiva (SANDINI et al., 2011; BELO et al., 2012).

193 O milho apresenta melhor desenvolvimento inicial quando cultivado sobre
194 palhada de plantas de cobertura, principalmente, sobre as culturas oleaginosas que
195 tem boa capacidade de exploração do solo, além de fixar nitrogênio, podendo
196 promover economia na adubação nitrogenada do milho cultivado após estas culturas
197 (LUIZ, 2014), diminuindo a necessidade de aplicação de nitrogênio mineral (AMADO
198 et al., 2002). Entretanto, nas gramíneas, devido à alta relação C/N, ocorre maior
199 imobilização de nutrientes, já que a quantidade destes, principalmente de N,
200 disponíveis na palha, não é adequada para a microbiota decompositora, o que implica

201 na imobilização e diminuição da disponibilidade de alguns nutrientes para as culturas
202 subsequentes (TEIXEIRA et al., 2009).

203 Segundo Matoso et al. (2015), a ciclagem de nutrientes proporcionada pela
204 decomposição e mineralização dos resíduos vegetais podem promover um melhor
205 desenvolvimento das culturas que são semeadas em sucessão. A cultura antecessora
206 já se constitui num dos critérios para a recomendação da adubação nitrogenada para
207 a cultura do milho em SPD (AMADO et al., 2002). De acordo com Silva et al. (2006),
208 ela tem efeito diferenciado sobre as características agronômicas e na adubação do
209 milho.

210 Sabundjian et al. (2014) avaliando doses de nitrogênio (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹
211 de N) no feijão em sucessão a gramíneas (milho solteiro e milho consorciado com
212 *Urochloa ruzizienses* com e sem inoculação de *Azospirillum*), concluíram que para
213 obter maior acréscimo de produtividade de grãos em sistema de plantio direto foi
214 necessário a aplicação de 80 kg ha⁻¹ de N em sucessão ao milho solteiro inoculado
215 com *Azospirillum*.

216 **2. Referências**

- 217 AMADO, T. J. C.; MIELNICZUK, J.; AITA, C. Recomendação de adubação
218 nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do
219 solo, sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.
220 26, n. 1, p. 241-248, 2002.
- 221 ANDRIOLI, I.; BEUTLER, A. N.; CENTURION, J. F.; ANDRIOLI, F. F.; COUTINHO, E.
222 L. M.; Produção de milho em plantio direto com adubação nitrogenada e cobertura do
223 solo na pré-safra. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 4, p. 1691-
224 1698, 2008.
- 225 ARAÚJO, R. M.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. V. B.
226 Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de
227 nitrogênio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 9, p. 1556-1560, 2014.
- 228 BALDANI, V. L. D.; ALVARES, M. A. B.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J.
229 Establishment of inoculated *Azospirillum* spp. in the rhizosphere and roots of field
230 grown wheat and sorghum. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 90, n. 3, p. 35-46, 1986.
- 231 BELO, E. S.; TERRA, F. D.; ROTTA, L. R.; VILELA, L. A.; PAULINO, H. B.; SOUSA,
232 E. D.; VILELA, L. A. F.; CARNEIRO, M. A. C. Decomposição de diferentes resíduos
233 orgânicos e efeito na atividade microbiana em um Latossolo vermelho de cerrado.
234 **Global Science and Technology**, Rio Verde, v. 05, n. 03, p. 107-116, 2012.
- 235 BERNARDON, T. **Componentes da produtividade de grãos de milho (*Zea mays***
236 **L.), visando obter parâmetros para a agricultura de precisão**. 2005. 95 f.
237 Dissertação (Mestrado em Geometria/ Tecnologia da Geoinformação) - Centro de
238 ciências rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.
- 239 BRACCINI, A. L.; DAN, L. G. M.; PICCININ, G. G.; ALBRECHT, L. P.; BARBOSA, M.
240 C.; ORTIZ, A. H. T. Seed Inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the
241 use of bioregulators in maize. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 58-64, 2012.
- 242 CARDOSO, E. D.; HAGA, K. I.; BINOTTI, F. F. S.; FILHO, V. V.; NOGUEIRA, D. C.;
243 Doses de zinco e nitrogênio na produtividade e qualidade de grãos de ervilha.
244 **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 3, p. 263-271, 2012.

- 245 CARVALHO, A. M.; BUSTAMANTE, M. M. C.; ALCÂNTARA, F. A.; RESCK, I. S.;
246 LEMOS, S. S. Characterization by solid-state CPMAS ¹³C NMR spectroscopy of
247 decomposing plant residues in conventional and no-tillage systems in Central Brazil.
248 **Soil & Tillage Research**, Kiel, v. 102, n. 1, p. 144-150, 2009.
- 249 CARVALHO, M. A. C.; SORATTO, R. P.; ALVES, M. C.; ARF, O.; SÁ, M. E. Plantas
250 de cobertura, sucessão de culturas e manejo do solo em feijoeiro. **Bragantia**,
251 Campinas, v. 66, n. 4, p. 659-668, 2007.
- 252 CASTOLDI, G.; PIVETTA, L. A.; STEINER, F.; COSTA, M. M. S. C.; COSTA, L. A. M.
253 Sistemas de produção e sua influência na cultura do milho safrinha em plantio direto.
254 **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 10, n. 1, p. 47-57, 2010.
- 255 CAVALLET, L. E.; PESSOA, A. C. S.; HELMICH, J. J.; HELMICH, P. R.; OST, C. F.
256 Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das
257 sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e**
258 **Ambiental**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p.129-132, 2000.
- 259 CAVALLI, E.; LANGE, A.; CAVALLI, C.; BEHLING, M. Decomposition and release of
260 nutrients from crop residues on soybean-maize cropping systems. **Revista Brasileira**
261 **de Ciências Agrárias**, Recife, v. 13, n. 2, p. 1-8, 2018.
- 262 COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da**
263 **safrinha brasileira de grãos**. Disponível em: <www.conab.gov.br> Acesso em: 22 de
264 Abril, 2018.
- 265 COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. S. F.; NAVES, D. C. F.; SANTOS, C. B.; ROCHA,
266 A. F. S. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of
267 second-harvest maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 304-
268 311, 2015.
- 269 DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada
270 associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na
271 cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina
272 Grande, v. 17, n. 10, p. 1023-1029, 2013.

- 273 DIDONET, A. D.; RODRIGUES, O; KENNER, M. H. Acúmulo de nitrogênio e de massa
274 seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa**
275 **Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 9, p. 645-651, 1996.
- 276 DONEGA, A. J.; SANTOS, E. L. Produtividade de soja em função da cultura
277 antecessora e do manejo do solo. **Revista Cultivando o Saber**, Cascavel, v. 8, n. 1,
278 p. 76-87, 2015.
- 279 FANCELLI, A. L; DOURADO-NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária,
280 2000. 360 p.
- 281 FELISBERTO, G. **Adubação nitrogenada na cultura do milho em sucessão a**
282 **plantas de cobertura no sudoeste goiano**. 2015. 64 f. Dissertação (Mestrado em
283 Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2015.
- 284 FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 2007. 576
285 p.
- 286 GARCIA, M. A.; MELLADO, C. J.; VALDÉS, M. Promoción del crecimiento del maiz
287 por cepas productoras de siderófos de *Azospirillum* y *Pseudomonas fluorescentes*. *In*:
288 CONGRESO NACIONAL DE LA FIJACION BIOLOGICA DEL NITROGENO Y I
289 ENCUENTRO IBEROAMERICANO DE INVESTIGACION SOBRE FIJACION DE
290 NITROGENO, 3., 1991. **Anais...** Cuernvaca, México, p. 61. 1991.
- 291 GARCIA, N. F. S. **Culturas antecessoras e inoculação de *Azospirillum brasilense***
292 **em arroz de terras altas e feijão de inverno em sucessão inoculado com**
293 ***Rhizobium tropici***. 2017. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Sistemas de
294 Produção) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira,
295 2017.
- 296 GOMES, R. F.; SILVA, A. G. DA; ASSIS, R. L.; PIRES, F. R. Efeito de doses e época
297 de aplicação de nitrogênio nos caracteres agronômicos da cultura do milho sob plantio
298 direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 5, p. 931-938, 2007.
- 299 HARGROVE, W. L. Winter legumes as a nitrogen source for no-till grain sorghum.
300 **Agronomy Journal**, Madison, v. 78, n. 1, p. 70-74, 1986.

- 301 HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação e rendimento a baixo
302 custo. Londrina: **Embrapa Soja (Documentos, 325)**, p. 21-25, 2011.
- 303 KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; DAL BEM, E. A.; PORTUGAL,
304 J. R.; VILELA, R. G. Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de
305 nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.
306 34, n. 2, p. 527- 538, 2013a.
- 307 KAPPES, C.; ARF, O.; BEM, E. A. D.; PORTUGAL, J. R.; GONZAGA, A. R. Manejo
308 do nitrogênio em cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto. **Revista**
309 **Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.13, n. 2, p. 201-217, 2014.
- 310 KAPPES, C.; SILVA, R. G.; FERREIRA, V. E. N. Aplicação foliar de *Azospirillum*
311 *brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura no milho safrinha. **Scientia Agraria**
312 **Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 16, n. 3, p. 366-373, 2017.
- 313 KAPPES, C.; ZANCANARO, L.; LOPES, A. A.; KOCH, C. V.; FUJIMOTO, G. R.;
314 FERREIRA, V. E. N. Aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio
315 em cobertura no milho safrinha. *In*: SEMINÁRIO NACIONAL-ESTABILIDADE E
316 PRODUTIVIDADE; 2013; Dourados. **Anais...** Dourados: Embrapa, p. 1-6, 2013b.
- 317 LUÍS, A. J. **Características agronômicas do milho em função da cultura**
318 **antecessora no sistema plantio direto**. 2014. 40 f. Dissertação (Mestrado em
319 Agronomia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2014.
- 320 MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; PAIVA, E.; CARNEIRO, N. P. **Fisiologia do**
321 **milho**. Sete lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2002. p. 23 (EMBRAPA-CNPMS. Circular
322 técnica, 22).
- 323 MATOSO, A. O.; SOUZA, L. C. F. ANDRADE, L. H. L.; PEDROSO, F. F.; COSTA, N.
324 R. Desempenho agronômico da cultura do milho sob diferentes plantas de cobertura
325 no cerrado. **Tecnologia & ciência agropecuária**, João Pessoa, v. 9, n. 3, p. 29-34,
326 2015.
- 327 MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias
328 diazotróficas associativas: Diversidade, ecologia e potencial de aplicações.
329 **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

- 330 MÜLLER, T. M. **Inoculação de *Azospirillum* brasileiro associada a níveis**
331 **crecentes de adubação nitrogenada e o uso de bioestimulante vegetal na**
332 **cultura do milho**. 2013. 98 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Produção
333 Vegetal) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.
- 334 MÜLLER, T. M.; SANDINI, I. E.; RODRIGUES, J. D.; NOVAKOWISKI, J. H.; BASI, S.;
335 KAMINSKI, T. H. Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with
336 broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.
337 46, n. 2, p. 210-215, 2016.
- 338 OKUMURA, R. S.; MARIANO, D. C. ZACCHEO, P. V. C. Uso de fertilizante
339 nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Revista Brasileira de Tecnologia**
340 **Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava, v. 4, n. 2, p. 226–244, 2011.
- 341 PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; LONGUI, W. V.; GITTI, D. C.; BARBIERI, M. K. F.;
342 GONZAGA, A. R.; TEIXEIRA, D.S. Inoculação com *Azospirillum brasilense* via foliar
343 associada a doses de nitrogênio em cobertura na cultura do milho. *In: 29º*
344 **CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO**, 2012. Águas de Lindóia. **Anais...**
345 Campinas: Instituto Agrônômico, p. 1413-1419, 2012.
- 346 PRIMAVESI, A. **O manejo ecológico do solo**. 4 ed. São Paulo: Nobel, 1982. 552 p.
- 347 QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D.
348 D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho
349 inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.
- 350 RADWAN, T. E. E.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de
351 *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de
352 milho e arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 10, p. 987-994,
353 2004.
- 354 RAMOS, M. L. G.; RIBEIRO, W. Q. Effect of fungicides on survival of *Rhizobium* on
355 seeds and the nodulation of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht,
356 v. 152, n. 1, p. 145-150, 1993.
- 357 ROESCH, L. F. W.; QUADROS, P. D.; CAMARGO, F. A. O.; TRIPLETT, E. W.
358 Screening of diazotrophic bacteria *Azospirillum* spp. for nitrogen fixation and auxin

- 359 production in multiple field sites in southern Brazil. **World Journal of Microbiology**
360 **Biotechnology**, Dordrecht, v. 23, n. 10, p. 1377-1383, 2007.
- 361 SÁ JUNIOR, de. A. **Comportamento agrônômico do milho em resposta ao modo**
362 **de aplicação e contrações de *Azospirillum brasilense***. 2012. 53 f. Dissertação
363 (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.
- 364 SABUNDJIAN, M. T. ARF, O.; KANEKO, F. H.; NASCIMENTO, V. Doses de nitrogênio
365 no feijão de inverno em sucessão à gramíneas com e sem inoculação de *azospirillum*
366 *brasilense*: análise econômica. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, Tupã,
367 v. 8, n. 2, p. 139-145, 2014.
- 368 SALOMONE, I. E. G.; DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to
369 *Azospirillum* inoculation. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 21, n. 3, p.193-196,
370 1996.
- 371 SANDINI, I. E.; MORAES, A.; PELISSARI, A.; NEUMANN, M.; FALBO, M. K.;
372 NOVAKOWISKI, J. H. Efeito residual do nitrogênio na cultura do milho no sistema de
373 produção integração lavoura-pecuária. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 8, p.
374 1315-1322, 2011.
- 375 SILVA, D. A.; VITORINO, A. C. T.; SOUZA, L. C. F.; GONÇALVES, M. C.; ROSCOE,
376 R. Culturas antecessoras e adubação nitrogenada na cultura do milho, em sistema
377 plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 5, n. 1, p. 75-88,
378 2006.
- 379 SOUSA, L. C. F.; FEDATTO, E.; GONÇALVES, M. C.; SOBRINHO, T. A.;
380 HOOGERHEIDE, H. C.; VIEIRA, V. V. Produtividade de grãos de milho irrigado em
381 função da cultura antecessora e de doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Milho**
382 **e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 2, n. 2, p. 44-51, 2003a.
- 383 SOUSA, L. C. F.; GONÇALVES, M. C. SOBRINHO, T. A.; FEDATTO, E.; ZANON, G.
384 D.; HASEGAWA, E. K. B. Culturas antecessoras e adubação nitrogenada na
385 produtividade de milho em plantio direto irrigado. **Revista Brasileira de Milho e**
386 **Sorgo**, Sete Lagoas, v. 2, n. 3, p. 55-62, 2003b.
- 387 TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3^o ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2006.
388 722 p.

- 389 TEIXEIRA, C. M.; CARVALHO, G. J.; ANDRADE, M. J. B.; SILVA, C. A.; PEREIRA, J.
390 M. Decomposição e liberação de nutrientes das palhadas de milho e milho +
391 crotalária no plantio direto do feijoeiro. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 31, n. 4, p. 647-
392 653, 2009.
- 393 TEIXEIRA, C. M.; CARVALHO, G. J.; ANDRADE, M. J. B.; SILVA, C. A.; BOTREL, E.
394 P. Nitrogênio e palhadas de milho solteiro e consorciado com feijão-de-porco, no
395 plantio direto do feijoeiro. *In*: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO,
396 9., 2008, Campinas. **Resumos...** Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, p.
397 1511-1514, 2008.
- 398 UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), **Grain: world**
399 **markets and trade**. United States: USDA/FAZ, 2017. Disponível em:
400 <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain.pdf>>. Acesso em: Abril 2018.
- 401 WUTKE, E. B.; ARRUDA, F. B.; FANCELLI, A. L.; PEREIRA, J. C. V. N. A.; SAKAI, E.;
402 FUJIWARA, W.; AMBROSANO, G. M. B. Propriedades do solo e sistema radicular do
403 feijoeiro irrigado em rotação de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**,
404 Viçosa, v. 24, n. 3, p. 621-633, 2000.
- 405 ZORITA, D. M.; CANIGIA, F. M. V. Análisis de la producción de cereales inoculados
406 con *Azospirillum brasilense* en la República Argentina. *In*: CASSÁN, F. D.; GARCIA
407 DE SALAMONE, I. (Ed) *Azospirillum ssp.: cell physiology, plant interactions and*
408 *agronomic research in Argentina*. **Asociación Argentina de Microbiología**, Buenos
409 Aires, p.155-66, 2008.

410 **3. CAPÍTULO II - DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO SEGUNDA SAFRA**
411 **EM FUNÇÃO DA CULTURA ANTECESSORA E INOCULAÇÃO COM**
412 ***Azospirillum brasilense***

413

414 **RESUMO** - Objetivou-se avaliar o desempenho agronômico do milho segunda safra
415 em função da cultura antecessora e inoculação com *Azospirillum brasilense*. O
416 experimento foi conduzido no campo experimental da Universidade Federal de
417 Goiás/Regional Jataí. O delineamento experimental foi em blocos casualizados em
418 esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. As parcelas foram
419 compostas pelas culturas antecessoras semeadas na safra verão soja, feijão e
420 braquiária com e sem inoculação (*Azospirillum brasilense*) e as subparcelas foram
421 constituídas por milho segunda safra com e sem inoculação com *Azospirillum*
422 *brasilense*. A soja antecedendo ao milho sem inoculação, proporcionou maior
423 diâmetro de colmo e o milho com inoculação foi superior ao milho sem inoculação
424 apenas para os tratamentos com feijão como cultivo antecessor. A soja
425 antecedendo ao milho com inoculação, proporcionou maior atividade da enzima
426 nitrato redutase. A inoculação com *Azospirillum brasilense* no milho resultou em
427 maior atividade da enzima nitrato redutase em relação ao sem inoculação sobre a
428 palhada de soja e braquiária. A soja e o feijão proporcionaram maior teor de
429 proteína bruta no milho. O milho apresentou maior massa de mil grãos no cultivo
430 antecessor soja e feijão. A massa de mil grãos do milho com inoculação foi superior
431 em relação ao sem inoculação, apenas nas parcelas que continham soja como
432 cultivo antecessor. Os resíduos da cultura antecessora proporcionam alterações
433 nos componentes fisiológicos, morfológicos e da produção, sem alterarem a
434 produtividade de grãos de milho. A inoculação com *Azospirillum brasilense* no milho
435 proporciona benefícios ao desenvolvimento das plantas, porém, não é suficiente
436 para proporcionar ganhos na produtividade de grãos.

437

438 **Palavras-chave:** bactérias diazotróficas, fixação biológica, produtividade de grãos.

439 **AGRONOMIC PERFORMANCE OF SECOND CROP CORN IN THE FUNCTION OF**
440 **PRECEDING CROPS AND INOCULATION WITH AZOSPIRILLUM**

441

442 **Abstract** - The aim of this study was to evaluate the agronomic performance of second
443 crop corn as a function of the predecessor crop and inoculation with *Azospirillum*
444 *brasilense*. The experiment was conducted in the experimental field of the Federal
445 University of Goiás / Jataí Regional. The experimental design was a randomized
446 complete block design with four replications. The plots were composed by the
447 predecessor crops sown in the summer crop soybean and beans without inoculation
448 and brachiaria with and without inoculation (*Azospirillum brasilense*) and the subplots
449 were constituted by maize second crop with and without inoculation with *Azospirillum*
450 *brasilense*. Soybean before maize without inoculation provided a larger stem diameter
451 and corn with inoculation was superior to maize without inoculation only for bean
452 treatments as a predecessor crop. The soybean before corn with inoculation, provided
453 greater activity of the enzyme nitrate reductase. The inoculation with *Azospirillum*
454 *brasilense* in maize resulted in higher activity of nitrate reductase enzyme in relation to
455 maize without inoculation on soybean and brachiaria. Soybean and beans provided
456 higher crude protein content in maize. The corn with inoculation showed a greater
457 mass of one thousand grains, in the predecessor crop soybean and beans. Maize with
458 inoculation was superior to maize without inoculation only where the predecessor crop
459 was soybean for the mass of a thousand grains. The residues of the predecessor crop
460 provide changes in the physiological, morphological and production components,
461 without altering the yield of corn grains. The inoculation with *Azospirillum brasilense* in
462 corn provides benefits to the development of the plants, however, it is not enough to
463 provide gains in grain yield.

464

465 **Key-words:** diazotrophic bacteria, biological fixation, grain yield.

466

467

468

469

470

471

472

473 3.1 Introdução

474 O milho é o cereal mais produzido no mundo, devido a sua alta produtividade
475 e, principalmente, a sua ampla utilização. Destaca-se o uso para a subsistência
476 humana, além de ser o principal insumo para a produção de bovinos, aves, suínos e
477 fornecimento de matéria-prima para as indústrias (PORTUGAL et al., 2016).

478 Para atingir elevadas produtividades, o milho necessita ter suas exigências
479 nutricionais plenamente satisfeitas (SOUSA et al., 2003). A adubação nitrogenada é
480 uma das principais limitações para se alcançar altos rendimentos com a cultura do
481 milho (CRUZ et al., 2009). Isto se deve ao fato do nitrogênio ser o nutriente mais
482 exigido por esta cultura, por fazer parte de estruturas e funções primordiais na planta
483 (BASI, 2013; SILVA et al., 2013) e por ser o mais oneroso dentre os nutrientes
484 disponibilizados à planta via adubação (KAPPES et al., 2014).

485 Em função do elevado preço do fertilizante e por envolver em seu processo de
486 fabricação a utilização de recursos não renováveis, algumas técnicas sustentáveis de
487 manejo para o nitrogênio têm chamado cada vez mais a atenção de pesquisadores e
488 produtores, como por exemplo o uso de bactérias diazotróficas do gênero
489 Azospirillum. Essas bactérias proporcionam estímulos ao crescimento vegetal, com
490 efeito também na nutrição das plantas, por possuírem a habilidade de fixar nitrogênio
491 atmosférico, minimizando custos e impactos ambientais.

492 Entretanto, os resultados de pesquisas até então disponíveis na literatura são
493 inconsistentes, uma vez que muitos fatores podem interferir na relação de simbiose
494 estabelecida entre a planta de milho e a bactéria. Dentre esses fatores, o teor de
495 matéria orgânica no solo, a qualidade e a quantidade de resíduos agrícolas, são
496 fatores que influenciam na concentração e na atividade da microbiota do solo
497 (VENZKE FILHO et al., 2008). O incremento de matéria orgânica no solo é uma prática
498 que tem sido adotada para diminuir a dependência dos adubos químicos, além de
499 contribuir com a melhoria das características químicas, físicas e biológicas do solo
500 (OLIVEIRA & ANDRADE, 2014).

501 Os resíduos de leguminosas têm grande importância como fornecedores de N
502 (ALCÂNTARA et al., 2000; ROSSI et al., 2013). Além disso, as leguminosas podem
503 contribuir na diminuição da acidez do solo e da relação C/N da matéria orgânica
504 (HARGROVE, 1986). Em contrapartida, as gramíneas apresentam maior capacidade
505 de produção de matéria seca, rusticidade e eficiência na reciclagem de nutrientes.

506 Também promovem melhoria ao solo, por possuírem maior conteúdo de lignina,
507 possibilitando aumento de ácidos carboxílicos e húmicos nos substratos (PRIMAVESI,
508 1982).

509 Neste contexto, em sistema plantio direto a cultura antecessora em função dos
510 seus resíduos vegetais depositados na superfície do solo, pode facilitar ou inibir a
511 relação associativa entre as bactérias diazotróficas e as plantas de milho. Desta
512 forma, objetivou-se com esta pesquisa avaliar o desempenho agrônômico do milho
513 segunda safra em função da cultura antecessora e inoculação com *Azospirillum*
514 *brasilense*.

515 3.2 Material e Métodos

516 3.2.1 Localização e caracterização da área experimental

517 O experimento foi conduzido no ano agrícola 2017/18, no município de Jataí-
518 GO, no campo experimental da Universidade Federal de Goiás (UFG) – regional Jataí.
519 A área experimental está localizada a 17°55'32" S e 51°42'32" O, com 685 m de
520 altitude.

521 A área onde foi instalado o experimento vem sendo conduzida em sistema de
522 semeadura direta, desde o ano agrícola 1998/1999, com a sucessão soja no verão e
523 milho ou sorgo na segunda safra.

524 De acordo com a classificação de Köppen a região possui clima do tipo Aw,
525 tropical de savana com chuva no verão e seca no inverno. Os dados meteorológicos
526 mensurados durante o período de condução do experimento estão presentes na
527 Figura 1.

528 O solo da área experimental é um Latossolo Vermelho Distroférico (LVdf) de
529 textura argilosa. A caracterização química e granulométrica do solo da área
530 experimental, coletado antes da instalação do experimento, encontra-se na Tabela 1.
531

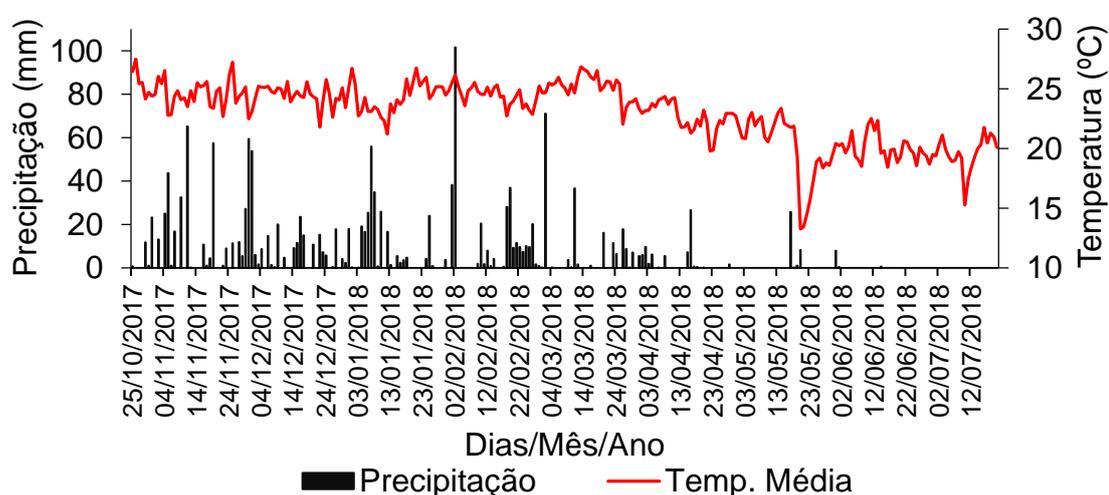


Figura 1. Precipitação pluviométrica (mm) e temperatura média (°C) na área experimental no período de outubro de 2017 a janeiro de 2018. Fonte: INMET, 2017/2018.

539 **Tabela 1.** Caracterização química e granulométrica do solo, na camada de 0 a 20 cm,
540 da área experimental antes da instalação do experimento, Jataí – GO,
541 2017.

pH (H ₂ O)	M.O. g kg ⁻¹	P (mel.) mg dm ⁻³	K	Ca	Mg cmol _c dm ⁻³	Al	H+Al	CTC	V%
5,40	45,20	8,80	0,26	3,50	2,24	0,05	3,70	10,10	63,90
Fe	Mn	Zn	Cu	Na	Argila	Areia	Silte		
			mg dm ⁻³			g kg ⁻¹			
30,70	48,90	3,50	7,40	3,50	585	240	175		

542

543 3.2.2 Tratamentos e delineamento experimental

544 O experimento foi conduzido em duas etapas. Etapa I: implantada entre os
545 meses de outubro de 2017 a fevereiro de 2018 (safra verão). Etapa II: conduzida entre
546 os meses de março a julho de 2018 (segunda safra).

547 O delineamento experimental foi estabelecido em blocos casualizados (DBC),
548 em esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. As fontes de variação
549 foram a) culturas antecessoras (parcelas): soja e feijão sem inoculação e braquiária
550 com e sem inoculação (*Azospirillum brasilense*) semeadas na safra verão e b) milho
551 segunda safra (subparcelas): com e sem inoculação com *Azospirillum brasilense*
552 (Tabela 2).

553

554 **Tabela 2.** Detalhamento dos tratamentos utilizados, culturas antecessoras
555 implantadas na safra verão e milho segunda safra com e sem inoculação
556 com *Azospirillum brasilense*.

Trat.	Safra verão	Milho segunda safra
1	Feijão	Sem inoculação
2	Feijão	Com inoculação
3	Soja	Sem inoculação
4	Soja	Com inoculação
5	Braquiária sem inoculação	Sem inoculação
6	Braquiária sem inoculação	Com inoculação
7	Braquiária com inoculação	Sem inoculação
8	Braquiária com inoculação	Com inoculação

557

558 3.2.3 Etapa I: safra verão

559 A dessecação da área experimental foi realizada no dia 25 de outubro de 2017,
560 objetivando-se o controle de plantas pré-existentes na área utilizando o herbicida

561 Roundup® 370 g L⁻¹ de ingrediente ativo (i. a.) na dose de 3,5 L ha⁻¹ do produto
562 comercial, antes da semeadura das culturas antecessoras.

563 Os blocos foram constituídos de 40 m de comprimento por 2,25 m de largura.
564 Cada unidade experimental foi composta por 10 m de comprimento por 2,25 m de
565 largura, sendo, 5 linhas espaçadas a 0,45 m entrelinhas, representando 22,5 m².
566 Considerou-se como área útil as três linhas centrais com 9 metros de comprimento,
567 desprezando-se uma linha para cada lado e 0,5 m em cada extremidade da parcela.

568

569 **3.2.3.1 Semeadura da soja**

570 A semeadura da cultura da soja foi realizada no dia 30 de outubro de 2017, com
571 o auxílio de uma semeadora de plantio direto contendo 5 linhas da marca Tatu
572 Marchesan, modelo PST Plus. Foi semeada a cultivar Monsoy M6410 IPRO,
573 distribuindo-se 15 sementes por metro, a uma profundidade de 0,04 m, visando a
574 obtenção de uma população final de 300.000 plantas ha⁻¹. Antes da semeadura,
575 procedeu-se o tratamento de sementes com Standak top® na dosagem 200 mL do
576 produto comercial (p.c.) para 100 kg de sementes. O produto é composto por fungicida
577 de ação protetora (piraclostrobina 20 g L⁻¹), inseticida sistêmico (metil tiofanato 225 g
578 L⁻¹) e inseticida de contato e ingestão (250 g L⁻¹ Fipronil), do grupo das estrobilurinas,
579 benzimidazol e pirazol, respectivamente.

580 Na adubação de semeadura foram aplicados 7 kg ha⁻¹ de N, 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅
581 e 63 kg ha⁻¹ de K₂O (via formulado 02-20-18). A adubação de cobertura foi realizada
582 aos 25 dias após a semeadura na dose de 20 kg ha⁻¹ de K₂O via cloreto de potássio.
583 A adubação na cultura da soja foi determinada com base nos resultados da análise
584 de solo seguindo as recomendações descritas por Souza & Lobato (2004).

585 As plantas daninhas foram controladas em pós-emergência utilizando-se o
586 herbicida Roundup® na dose de 2,5 L ha⁻¹ do produto comercial. Para o manejo de
587 doenças foi realizado duas aplicações preventivas com fungicida. A primeira
588 pulverização foi efetuada no estágio reprodutivo R1 e a segunda 20 dias após a
589 primeira aplicação, com os produtos Approach Prima® (0,3 L ha⁻¹) e Opera® (0,5 L
590 ha⁻¹), respectivamente.

591

592 3.2.3.1 Semeadura do feijão

593 No dia 30 de outubro de 2017 procedeu-se a semeadura do feijão, utilizando a
594 mesma semeadora citada anteriormente para a cultura da soja. A cultivar utilizada foi
595 a BRS Estilo do grupo comercial carioca, distribuindo-se 15 sementes por metro, a
596 uma profundidade de 0,04 m, visando a obtenção de uma população final de 266.666
597 plantas ha⁻¹. As sementes foram tratadas com Standak top® na dosagem 200 mL p.c.
598 para 100 kg de sementes.

599 Na adubação mineral de semeadura foram aplicados 7 kg ha⁻¹ de N, 70 kg ha⁻¹
600 ¹ de P₂O₅ e 63 kg ha⁻¹ de K₂O (via formulado 02-20-18). Foram efetuadas duas
601 adubações em cobertura. A primeira foi realizada 15 dias após a emergência
602 (19/11/2017) e a segunda 30 após a emergência (04/12/2017), ambas com a dose de
603 45 kg ha⁻¹ de N, totalizando 90 kg ha⁻¹ de N, utilizando como fonte a ureia. A adubação
604 na cultura do feijoeiro foi determinada com base nos resultados da análise de solo
605 seguindo as recomendações descritas por Souza & Lobato (2004).

606 No dia 16 de novembro de 2017 realizou-se o controle das plantas daninhas
607 em pós-emergência, utilizando o herbicida Basagran® (1,2 L ha⁻¹ p.c.). No dia 26 de
608 novembro de 2017, efetuou-se a segunda aplicação em pós-emergência, com o
609 herbicida Flex® na dosagem de 1,0 L ha⁻¹ p.c.

610 Objetivando o controle de doenças na cultura do feijão, realizou-se duas
611 aplicações preventivas com o fungicidas Approach Prima® (0,3 L ha⁻¹). O controle de
612 pragas foi realizado com aplicações de inseticidas com base no nível de controle das
613 pragas infestantes na área com a utilização dos produtos Lambda-cialotrina® (0,15 L
614 ha⁻¹), Intrepid® (0,2 L ha⁻¹) e Mustang® (0,130 L ha⁻¹).

615

616 3.2.3.3 Semeadura da braquiária

617 A semeadura da braquiária foi realizada no dia 30 de outubro de 2017, com a
618 mesma semeadora utilizada para a soja e o feijão. Utilizou-se sementes de *Brachiaria*
619 *brizantha* (syn. *Urochloa brizantha*) cv. marandu, com valor cultural (V.C.) de 50%,
620 distribuindo-se 22 kg ha⁻¹. A porcentagem de V.C. é obtida pela multiplicação da
621 porcentagem de germinação pela porcentagem de pureza, dividida por 100, ou seja,
622 % V.C. = (% germinação x % pureza) / 100.

623 Primeiramente, foi semeada a braquiária que não recebeu o inoculante
624 (tratamento 5 e 6), em seguida, as sementes que foram inoculadas (tratamento 7 e 8),

625 para que não houvesse a contaminação das sementes que não receberam a
626 inoculação.

627 As sementes de braquiária (tratamentos 7 e 8) foram inoculadas com o produto
628 Azokop® da empresa Koppert Biological Systems com a espécie *Azospirillum*
629 *brasiliense* estirpe AbV5 + AbV6 concentração bacteriana de $1,8 \times 10^8$ unidade
630 formadora de colônia (UFC) por mL. A inoculação com *Azospirillum brasiliense* via
631 semente foi realizada na ocasião da semeadura, na dose 100 mL para 25 kg de
632 semente.

633 A colheita do feijão e da soja foram realizadas manualmente, nos dias
634 16/01/2018 e 17/02/2018, respectivamente. A produtividade para as culturas citadas
635 anteriormente, foram obtidas a partir da trilha mecânica e aferição da massa dos grãos
636 oriundo de todas as plantas colhidas na área útil de cada unidade experimental.

637 A produtividade média da cultura do feijão e da soja utilizadas como culturas
638 antecessoras ao milho segunda safra foram de 2.928 e 4.767 kg ha⁻¹. Segundo dados
639 da Companhia Nacional de Abastecimento (2018), a produtividade média na safra
640 2017/18 do feijão primeira safra e da cultura da soja, foram de 1.207 e 3.276 kg ha⁻¹,
641 respectivamente. A elevada produtividade de ambas as culturas comparadas à média
642 nacional, pode ser explicada, devido as condições edafoclimáticas terem sido
643 adequadas durante a condução do experimento no período de safra (Tabela 1 e Figura
644 1). O total de precipitação registrado durante ciclo da cultura do feijão foi de 891 mm
645 e para a soja 1109 mm.

646 Após a colheita do feijão e da soja e dessecação da braquiária, foi coletada
647 uma amostra ao acaso em cada unidade experimental, com quadro de ferro de 60 x
648 60 cm, representando 0,36 m², com a finalidade de estimar a massa de plantas secas
649 e o N na massa de plantas secas em decomposição de cada parcela. A amostra foi
650 dividida em quatro partes, para realizar a contabilização das variáveis mencionadas
651 anteriormente em 0, 15, 30 e 45 dias após a colheita da soja e feijão e dessecação da
652 braquiária.

653 As amostras da cobertura morta foram acondicionadas em litter bags, que são
654 sacos de tela de nylon, com malha de 2 mm de abertura, cada um com dimensão de
655 15 x 15 cm.

656 Realizou-se a coleta da cobertura morta do feijoeiro nos dias 16 e 31 de janeiro,
657 16 de fevereiro, 03 de março de 2018 (0, 15, 30 e 45 dias após a colheita). Para as
658 culturas da soja e braquiária, as coletas foram realizadas nos dias 17 de fevereiro, 4

659 e 19 de março e 2 de abril de 2018, 0, 15, 30 e 45 dias após a colheita (para a soja) e
660 dessecação (para a braquiária). Após as coletas, as amostras foram acondicionadas
661 em sacos de papel e encaminhadas ao laboratório para secagem em estufa de
662 ventilação forçada a temperatura média de 60 °C, até atingir massa constante.

663 A massa de plantas secas na área foi obtida pelo peso seco da massa vegetal
664 presente nos sacos de decomposição (litter bags) referentes a cada época de
665 amostragem (0, 15, 30 e 45), posteriormente, transformando-os em kg ha⁻¹. A
666 quantidade de nitrogênio presente na massa de plantas secas, durante o transcorrer
667 do tempo, foi obtida pelo produto da massa de plantas secas, multiplicado pelo teor
668 de nitrogênio presente na massa de plantas secas. O teor de nitrogênio contido nos
669 resíduos vegetais das culturas antecessoras foi determinado utilizando a metodologia
670 descrita pela AOAC (1990).

671

672 **3.2.4 Etapa II: segunda safra**

673 As parcelas contendo as culturas antecessoras foram subdivididas em milho
674 (subparcela). Cada unidade experimental da subparcela foi composta por 5 m de
675 comprimento por 2,25 m de largura (5 linhas espaçadas a 0,45 m), apresentado uma
676 área equivalente a 11,25 m².

677 A dessecação foi realizada no dia 07 de março 2018, objetivando-se o controle
678 de plantas pré-existentes na área utilizando o herbicida Gramoxone® (paraquate 200
679 g L⁻¹ de i.a.) na dose de 2,0 L ha⁻¹ do p.c. antes da semeadura do milho segunda safra.

680 A semeadura do milho segunda safra foi realizada manualmente, no dia 06 de
681 março de 2018, utilizando-se o híbrido Dekalb 390 VT PRO 2, distribuindo 3,0
682 sementes por metro, com o objetivo de se obter uma população final de 66.666 plantas
683 ha⁻¹. As sementes foram tratadas com Standak top® na dosagem 200 mL p.c. 100 kg
684 de sementes⁻¹.

685 A inoculação com *Azospirillum brasilense* via semente foi realizada após o
686 tratamento de sementes com Standak top na ocasião da semeadura. Utilizou-se o
687 inoculante líquido Azokop® da empresa Koppert Biological Systems com a espécie
688 *Azospirillum brasilense* estirpe AbV5 + AbV6 concentração bacteriana de 1,8x10⁸
689 unidade formadora de colônia por mL, na dose de 100 mL para 25 kg de sementes.

690 Na adubação de semeadura foram aplicados à lanço 30 kg ha⁻¹ de N (na forma
691 de ureia), 88,8 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (na forma de superfosfato simples) e 35 kg ha⁻¹ de K₂O

692 (na forma de cloreto de potássio). A adubação em cobertura foi realizada no estágio
693 vegetativo V3 (três folhas totalmente expandidas) da cultura do milho, distribuindo a
694 lanço 70 kg ha^{-1} de N (na forma de ureia) e 35 kg ha^{-1} de K_2O (na forma de KCL). A
695 adubação de semeadura e cobertura foi estabelecida de acordo com os resultados da
696 análise de solo e a expectativa de rendimento (8 Mg ha^{-1}) para a cultura do milho
697 conforme Souza & Lobato (2004).

698 No dia 16 de março de 2018 realizou-se o controle das plantas daninhas em
699 pós-emergência utilizando a associação do herbicida Atrazina® ($2,0 \text{ L ha}^{-1}$) e glifosato
700 ($2,0 \text{ L ha}^{-1}$). As aplicações dos produtos fitossanitários foram realizadas com
701 pulverizador de barras tratorizado, com volume de calda equivalente a 120 L ha^{-1} .

702 Para a população inicial, no dia 31 de março de 2018, realizou-se a contagem
703 do número de plantas presentes na área útil de cada parcela, com os resultados
704 extrapolados para plantas ha^{-1} .

705 Para a mensuração da atividade da enzima nitrato redutase coletou-se a última
706 folha completamente expandida de três plantas de milho aleatórias dentro de cada
707 área útil no estágio vegetativo V3. A quantificação da atividade da enzima nitrato
708 redutase, foi determinada utilizando a metodologia descrita por Meguro & Magalhães
709 (1982).

710 No estágio reprodutivo R1 (embonecamento e polinização, estilo-estigma
711 visíveis para fora das espigas), foram efetuadas as avaliações em campo das
712 características agrônômicas. Foram avaliadas 10 plantas ao acaso na área útil de
713 cada parcela e mensurados a altura da planta (considerando a distância da superfície
714 do solo até o ponto de inserção da folha “bandeira”), altura da inserção da primeira
715 espiga (mensurando a distância da superfície do solo até a inserção da primeira
716 espiga viável), diâmetro do colmo (efetuando a medição com paquímetro do primeiro
717 internódio), índice de clorofila Falker (realizando a leitura das folhas oposta e abaixo
718 da espiga, com o aparelho clorofilog CFL 1030 Falker). Foram coletadas 10 folhas
719 opostas e abaixo da espiga na área útil, descartando as extremidades e a nervura
720 central, posteriormente, a parte mediana foi encaminhada para laboratório para a
721 quantificação da matéria mineral e teor de proteína bruta utilizando-se a metodologia
722 descrita por AOAC (1990).

723 Antes da colheita, no dia 15 de julho de 2018 foi quantificada a população final
724 e número de espigas por plantas contabilizando todas as plantas presentes na área
725 útil com os resultados extrapolados para plantas ha^{-1} .

726 Após a colheita, realizada no dia 20/07/2018 (134 dias após a emergência),
727 foram mensurados, de uma amostra de 10 espigas coletadas dentro da área útil, os
728 seguintes componentes da produção: comprimento de espiga; diâmetro de espiga
729 (porção mediana da espiga); quantidade de fileiras por espiga; quantidade de grãos
730 por fileiras; quantidade de grãos por espiga; diâmetro de sabugo; comprimento dos
731 grãos. A produtividade foi obtida a partir da trilha mecânica e pesagem de grãos
732 oriundo de todas as espigas colhidas na área útil das parcelas. A massa de mil grãos
733 foi obtida de acordo com a metodologia descrita em Brasil (1992).

734

735

3.2.5 Análise estatística

736 Para a análise estatística dos dados utilizou-se o programa estatístico R-bio
737 (BHERING, 2017). Os dados foram submetidos à análise de variância e os resultados
738 considerados significativos pelo teste F até 10% de probabilidade. Análises
739 complementares de regressão foram realizadas para as épocas de coletas das
740 culturas antecessoras. As médias referentes as fontes de variação culturas
741 antecessoras e inoculação com *Azospirillum brasilense* foram comparadas pelo teste
742 Scott-Knott a 5% de probabilidade.

743 3.3 Resultados e Discussão

744 Na avaliação dos dados, verificou-se interação entre as fontes de variação
745 culturas antecessoras e épocas de avaliação para a variável massa de plantas secas
746 (Tabela 3). Para o teor de nitrogênio presente na massa de plantas secas das culturas
747 antecessoras, entretanto, não foi detectado interação entre as fontes de variação.
748 Avaliando as fontes de variação isoladamente, constatou-se efeito significativo tanto
749 para as culturas antecessoras quanto para as épocas.

750

751 **Tabela 3.** Resumo da análise de variância (Pr (>F_c)) para: bloco, culturas
752 antecessoras, épocas e suas interações para massa de plantas secas
753 (MPS) e teor de nitrogênio na massa de plantas secas (NMPS) das
754 culturas antecessoras.

Fonte de variação	Pr (>F _c)	
	MPS	NMPS
Bloco	0,238 ^{ns}	0,613 ^{ns}
Culturas	0,001 ^{***}	0,001 ^{***}
Épocas	0,001 ⁻⁻	0,001 ⁻⁻
Culturas*Épocas	0,001 ^{***}	0,248 ^{ns}
CV ¹ (%)	20,59	37,16
CV ² (%)	5,32	12,99
Regressão Polinomial (Fator épocas)		
Regressão linear		0,001 ^{***}
Regressão quadrática		0,458 ^{ns}

755 -- regressão polinomial, *** significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$), ^{ns} não significativo ($p > 0,10$),
756 CV¹: coeficiente de variação da parcela (culturas antecessoras), CV²: coeficiente de variação da sub-
757 parcela (épocas de coletas).
758

759 Ao desdobrar a interação e avaliar as culturas antecessoras dentro dos níveis
760 épocas de avaliação para a massa de plantas secas, foi possível separar os
761 tratamentos em três grupos. A massa de plantas secas, onde utilizou-se braquiária
762 (com e sem inoculação) como cultura antecessora foi maior, seguido da soja e por
763 último o feijão, em todas as épocas de coletas (Tabela 4 e Figura 5).

764 A braquiária foi conduzida com a finalidade de produzir biomassa, entretanto, a
765 cultura da soja e do feijão foi estabelecida com a finalidade econômica, portanto,
766 houve exportação de massa através da colheita dos grãos. Além disso, no momento
767 da coleta do material da soja e do feijão parte já havia sido degradada em razão da
768 senescência das culturas.

769 **Tabela 4.** Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas para
770 massa de matéria seca (kg ha⁻¹).

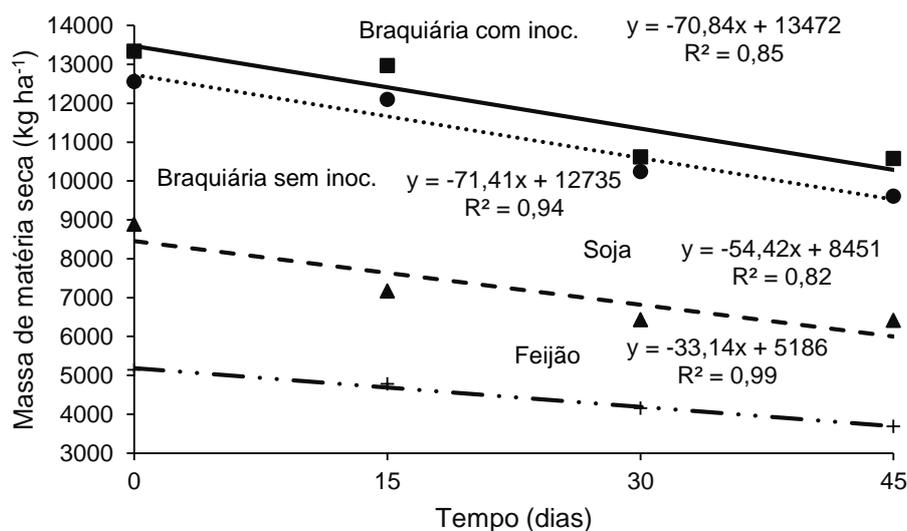
Culturas antecessoras	Épocas de coletas (dias)			
	0	15	30	45
Braquiária com Inoculação	13340 a	12970 a	10620 a	10581 a
Braquiária sem Inoculação	12560 a	12100 a	10245 a	9607 a
Soja	8890 b	7170 b	6435 b	6414 b
Feijão	5138 c	4780 c	4155 c	3690 c

771 Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste Scott-
772 Knott 5% de probabilidade.
773

774 A cultura da soja e do feijão são espécies de mecanismos fotossintético C₃ e a
775 braquiária é uma planta C₄. De acordo com Taiz & Zieger (2006), as plantas C₄
776 minimizam a fotorrespiração ao separar no espaço a fixação inicial de CO₂ e o ciclo
777 de Calvin, realizando estas etapas em tipos de células diferentes o que torna as
778 plantas C₄ mais eficientes na produção de massa vegetal, uma vez que as C₄ fazem
779 melhor uso de água e radiação solar disponível.

780 Ao analisar o desdobramento da fonte de variação épocas dentro dos níveis
781 culturas antecessoras, observa-se ajuste para equação de regressão linear negativa,
782 ou seja, com o aumento do tempo de avaliação ocorreu diminuição na massa de
783 plantas secas para todas as culturas antecessoras (Figura 4). A cultura do feijão
784 apresentou maior taxa de decomposição, com diminuição de 29% do peso inicial aos
785 45 dias após a colheita. A braquiária (com e sem inoculação) apresentou menor taxa
786 de decomposição, com redução de 21% da massa inicial aos 45 dias após a
787 dessecação. A cultura da soja se comportou de forma intermediária em relação a taxa
788 de decomposição, apresentando uma redução de 27% na sua massa aos 45 dias após
789 a colheita.

790 Além de apresentar maior produção de fitomassa, normalmente as espécies
791 gramíneas apresentam maior relação C/N em relação as leguminosas, desta forma a
792 velocidade de decomposição é mais lenta, formando uma cobertura de solo mais
793 estável. No entanto, as leguminosas, possuem uma menor relação C/N resultando em
794 maior velocidade de decomposição, e conseqüentemente, maior disponibilização de
795 nutrientes (AGOSTINETTO et al., 2000).
796



797

798 **Figura 4.** Massa seca dos resíduos das culturas antecessoras: braquiária [com
799 inoculação (■) e sem inoculação (●)], soja (▲) e feijão (+), em avaliações
800 realizadas em campo até 45 dias após a distribuição dos litter bags na
801 superfície do solo.

802

Torres et al. (2005), avaliando a decomposição e a liberação de nitrogênio de
803 resíduos culturais de plantas de cobertura, concluíram que as leguminosas
804 apresentaram maior velocidade de decomposição quando comparadas às gramíneas.

805

Analisando isoladamente a fonte de variação culturas antecessoras para
806 quantidade de N, em kg ha^{-1} , presente nos resíduos vegetais (Tabela 5), nota-se a
807 formação de dois grupos. A braquiária, com e sem inoculação, apresentou mais N, em
808 kg ha^{-1} , em relação a soja e ao feijão. Apesar da soja e feijão serem leguminosas
809 fixadoras de nitrogênio, os resultados podem ser explicados, pelo fato da braquiária
810 apresentar maior biomassa inicial, o que proporcionou maior acúmulo de nitrogênio
811 (Tabela 4). Além disso, na cultura da soja e do feijão ocorreram a perda de N através
812 da queda das folhas no processo de senescência e pela exportação através dos grãos
813 colhidos.

814

815 **Tabela 5.** Nitrogênio presente na massa de plantas secas em função das diferentes
816 culturas antecessoras implantadas na safra verão.

Culturas antecessoras	N (kg ha^{-1})
Braquiária com inoculação	111,73 a
Braquiária sem inoculação	106,15 a
Soja	52,65 b
Feijão	48,89 b

817

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste Scott-
818 Knott 5% de probabilidade.

819

820 Soratto et al. (2012), estudando a composição, produção de matéria seca e
821 cobertura do solo em cultivo exclusivo e consorciado de milheto e crotalária,
822 verificaram que a gramínea de cobertura, por sua maior capacidade de produção de
823 fitomassa em curto prazo, conseguiu extrair mais N por unidade de área, em
824 comparação à leguminosa.

825 Com relação a braquiária com e sem inoculação, os resultados mostram que o
826 *Azospirillum brasilense* não foi eficiente em incrementar a biomassa e o N acumulado,
827 visto que, ambos os tratamentos integraram o mesmo grupo (Tabela 4 e 5).

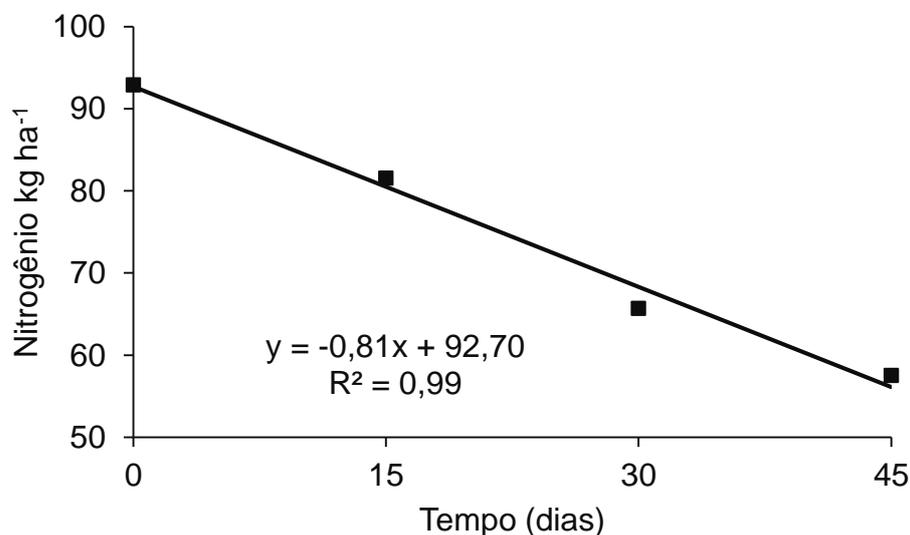
828 Pesquisas realizadas por Marasca et al. (2011) e Torres et al. (2005),
829 evidenciaram resultados ainda mais elevados de nitrogênio na palhada da braquiária
830 comparado ao presente estudo (157,70 kg ha⁻¹ e 130 kg ha⁻¹ de nitrogênio,
831 respectivamente). Apesar das quantidades totais de N nas leguminosas terem sido
832 menores do que a braquiária, Calonego et al. (2012), citam que a utilização de
833 leguminosas como plantas de cobertura podem ser importantes para o suprimento de
834 N às culturas subsequentes, principalmente aquelas mais exigentes, como o milho,
835 por apresentar menor relação C/N, e conseqüentemente, maior taxa de
836 decomposição. Contudo, a desvantagem das leguminosas é que devido à baixa
837 relação C/N dos seus resíduos, não há boa cobertura de solo.

838 Avaliando-se isoladamente a fonte de variação época, para a quantidade de N,
839 em kg ha⁻¹, presente nos resíduos vegetais, nota-se que os dados se ajustaram a
840 equação de regressão linear negativa, ou seja, com o passar do tempo observou-se
841 diminuição na quantidade de N (Figura 6). Esse comportamento pode ser explicado
842 em função da decomposição da massa de plantas secas (Figura 5), uma vez que à
843 medida em que a palhada foi decomposta, os nutrientes presentes nela, dentre eles o
844 N, eram liberados para o solo.

845 Deve-se destacar que após as colheitas das culturas do feijão e da soja e
846 dessecação da braquiária, houve um acumulado de precipitação de aproximadamente
847 569 mm e a temperatura média variou entre 21 e 28°C, favorecendo a atividade dos
848 microrganismos decompositores, e conseqüentemente, a decomposição. Esta
849 hipótese é confirmada por Lourente et al. (2010), que trabalharam com rotação de
850 culturas e constataram que a maior biomassa microbiana ocorreu no verão, quando
851 se verificam os maiores índices pluviométricos e temperaturas. Alves et al. (2011),
852 avaliando a biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e

853 diferentes sistemas de manejos, destacaram que a população microbiana é
854 influenciada pelas épocas de coletas, umidade e temperatura.

855



856

857 **Figura 5.** Nitrogênio remanescente nos resíduos das culturas antecessoras, em
858 avaliações realizadas em campo até 45 dias após a distribuição dos litters
859 bags na superfície do solo.

860

861 O resumo da análise de variância para diâmetro de colmo, altura de inserção
862 de espiga e alturas de plantas de milho segunda safra encontra-se na Tabela 6.
863 Observou-se interação entre as fontes de variação culturas antecessoras e inoculação
864 com *Azospirillum brasilense* apenas para a variável diâmetro de colmo.

865

866 **Tabela 6.** Resumo da análise de variância (Pr (>F_c)) para: bloco, culturas
867 antecessoras, inoculação com *Azospirillum brasilense* e suas interações
868 para diâmetro de colmo (DCOL), altura de inserção de espiga (AINE) e
869 altura de plantas (ALP) de milho.

Fonte de variação	Pr (>F _c)		
	DCOL	AINE	ALP
Bloco	0,005 ***	0,137 ns	0,442 ns
Culturas	0,267 ns	0,352 ns	0,599 ns
Inoculação	0,091*	0,986 ns	0,348 ns
Culturas*Inoculação	0,045 **	0,243 ns	0,243 ns
CV ¹ (%)	3,18	2,18	4,50
CV ² (%)	3,11	2,97	3,07

870 *** significativo a 1% de probabilidade (p < 0,01), ** significativo a 5% de probabilidade (0,01 =< p <
871 0,05), * significativo a 10% de probabilidade (0,05 > p < 0,10) ns não significativo (p > 0,10), CV¹:
872 coeficiente de variação da parcela (culturas), CV²: coeficiente de variação da sub-parcela (inoculação).

873 O cultivo com soja anterior ao milho segunda safra sem inoculação,
 874 proporcionou maior diâmetro de colmo, comparado as demais culturas antecessoras
 875 estudadas (Tabela 7). Entretanto, o milho segunda safra com inoculação não foi
 876 influenciado pelas culturas antecessoras. Avaliando o fator inoculação com
 877 *Azospirillum brasilense* no milho segunda safra dentro dos níveis de culturas
 878 antecessoras, nota-se que o milho com inoculação foi superior em relação ao milho
 879 sem inoculação apenas para o tratamento com o feijão como cultivo antecessor.

880

881 **Tabela 7.** Desdobramento da interação para culturas antecessoras e inoculação com
 882 *Azospirillum brasilense* para diâmetro de colmo (mm).

Culturas Antecessoras	Milho sem inoculação	Milho com inoculação
Soja	26,18 aA	25,75 aA
Braquiária sem inoculação	25,29 bA	25,51 aA
Braquiária com inoculação	25,00 bA	25,21 aA
Feijão	25,21 bB	26,46 aA

883 Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem
 884 significativamente pelo teste Scott-knott 5% de probabilidade.

885

886 Costa et al. (2015) constataram que a inoculação com *Azospirillum brasilense*
 887 em sementes de milho cultivado na segunda safra, em sucessão a cultura da soja,
 888 promoveu maior diâmetro de colmo. Segundo Radwan et al. (2004) e Moreira et al.
 889 (2010), os incrementos verificados no diâmetro basal do colmo das plantas
 890 submetidas à inoculação podem ser associados à produção de fito-hormônios pelas
 891 bactérias, como auxinas, giberelinas e citocininas. Este é um importante componente,
 892 pois, além de reduzir o risco ao acamamento (COSTA et al., 2018), também aumenta
 893 o volume disponível para acúmulo de reservas, que pode refletir no maior enchimento
 894 de grãos (KAPPES et al., 2011).

895 Nota-se que houve interação entre as fontes de variação culturas antecessoras
 896 e inoculação com *Azospirillum brasilense* apenas para a atividade da enzima nitrato
 897 redutase (ANR) (Tabela 8). Avaliando-se isoladamente a fonte de variação culturas
 898 antecessoras, verifica-se que houve efeito significativo para o teor de proteína bruta
 899 no milho segunda safra.

900 Não foi constatado efeito da cultura antecessora no milho sem inoculação para
 901 a ANR (Tabela 9). No entanto, o cultivo com soja anterior ao milho segunda safra com
 902 inoculação, proporcionou maior atividade da ANR, em relação ao cultivo antecessor
 903 com braquiária (com e sem inoculação) e feijão. A inoculação com *Azospirillum*

904 *brasiliense* no milho segunda safra resultou em maior ARN em relação ao milho sem
905 inoculação sobre a palhada de soja e braquiária sem inoculação.

906

907 **Tabela 8.** Resumo da análise de variância (Pr (>F_c)) para bloco, culturas
908 antecessoras, inoculação com *Azospirillum brasilense* e suas interações
909 para matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), índice de clorofila Falker
910 (ICF) e atividade da enzima nitrato redutase (ANR) nas folhas do milho
911 segunda safra.

Fonte de variação	Pr (>F _c)			
	MM	PB	ICF	ANR
Bloco	0,214 ^{ns}	0,006 ^{***}	0,025 ^{**}	0,080 [*]
Culturas	0,139 ^{ns}	0,047 ^{**}	0,812 ^{ns}	0,001 ^{***}
Inoculação	0,624 ^{ns}	0,919 ^{ns}	0,431 ^{ns}	0,001 ^{***}
Culturas*Inoculação	0,207 ^{ns}	0,613 ^{ns}	0,720 ^{ns}	0,001 ^{***}
CV ¹ (%)	2,34	3,35	3,13	22,95
CV ² (%)	1,74	2,37	2,72	24,60

912 *** significativo a 1% de probabilidade (p < 0,01), ** significativo a 5% de probabilidade (0,01 =< p <
913 0,05), * significativo a 10% de probabilidade (0,05 > p < 0,10) ^{ns} não significativo (p > 0,10), CV¹:
914 coeficiente de variação da parcela (culturas), CV²: coeficiente de variação da subparcela (inoculação).
915

916 **Tabela 9.** Desdobramento da interação entre culturas antecessoras dentro dos níveis
917 de inoculação com *Azospirillum brasilense* para a ARN em µmoles de NO₂⁻
918 H⁻¹ g⁻¹ MF.

Culturas Antecessoras	Milho sem inoculação	Milho com inoculação
Soja	0,035 aB	0,168 aA
Braquiária sem inoculação	0,021 aB	0,117 bA
Feijão	0,054 aA	0,039 cA
Braquiária com inoculação	0,036 aA	0,036 cA

919 Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem
920 significativamente pelo teste Scott-Knott 5% de probabilidade.
921

922 A maior atividade da enzima nitrato redutase no milho com inoculação em
923 relação ao milho sem inoculação, pode ser explicado em função da fixação biológica
924 de nitrogênio realizada pela *Azospirillum brasilense* (BASHAN & LEVANONY, 1990).
925 Segundo Silva et al. (2011) à medida que se elevam os teores de nitrogênio, aumenta-
926 se a atividade da ANR.

927 O teor de proteína bruta nas folhas do milho segunda safra foi afetado apenas
928 pelas culturas antecessoras (Tabela 10). Nota-se que os tratamentos com feijão e soja
929 apresentaram as maiores médias, diferindo estatisticamente dos tratamentos
930 constituídos com braquiária (com e sem inoculação). Esses resultados podem ter
931 ocorrido devido as leguminosas apresentarem uma relação C/N menor quando

932 comparado com as gramíneas, portanto, o processo de decomposição da palhada é
 933 mais acelerado, o que leva a uma maior liberação de N, beneficiando as plantas em
 934 cultivos subsequentes.

935

936 **Tabela 10.** Teor de proteína bruta (%) no milho segunda safra em função de diferentes
 937 culturas antecessoras implantadas na safra verão.

Culturas Antecessoras	Proteína bruta
Feijão	12,92 a
Soja	12,63 a
Braquiária sem Inoculação	12,33 b
Braquiária com Inoculação	12,28 b

938 Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste Scott-
 939 Knott 5% de probabilidade.

940

941 Para a população inicial e final, número de espiga por planta, diâmetro de
 942 sabugo, diâmetro de espiga e comprimento de espiga não foi verificada interação
 943 entre as fontes de variação (Tabela 11). Analisando as fontes de variação
 944 isoladamente, também não foi observada diferença significativa para as variáveis
 945 mencionadas anteriormente.

946

947 **Tabela 11.** Resumo da análise de variância (Teste F) para: bloco, culturas
 948 antecessoras, inoculação com *Azospirillum brasilense* e suas interações
 949 para população inicial (PIN) e final (PFIN), número de espiga por planta
 950 (NESP), diâmetro de sabugo (DSAB), diâmetro de espiga (DESP),
 951 comprimento de espiga (CESP) de milho.

Fonte de variação	Pr (>F _c)					
	PIN	PFIN	NESP	DSAB	DESP	CESP
Bloco	0,099 *	0,186 ^{ns}	0,762 ^{ns}	0,134 ^{ns}	0,013 **	0,044 **
Culturas	0,215 ^{ns}	0,414 ^{ns}	0,601 ^{ns}	0,219 ^{ns}	0,535 ^{ns}	0,623 ^{ns}
Inoculação	0,432 ^{ns}	0,929 ^{ns}	0,257 ^{ns}	0,112 ^{ns}	0,795 ^{ns}	0,738 ^{ns}
Culturas*Inoculação	0,687 ^{ns}	0,983 ^{ns}	0,556 ^{ns}	0,546 ^{ns}	0,643 ^{ns}	0,140 ^{ns}
CV ¹ (%)	7,72	9,22	6,58	2,14	2,41	3,85
CV ² (%)	8,72	8,20	3,71	1,48	2,76	3,45

952 ** significativo a 5% de probabilidade (0,01 =< p < 0,05), * significativo a 10% de probabilidade (0,05 >
 953 p < 0,10) ^{ns} não significativo (p > 0,10), CV¹: coeficiente de variação da parcela (culturas), CV²:
 954 coeficiente de variação da sub-parcela (inoculação).

955

956 Quadros et al. (2014) estudando três híbridos de milho (AS1575, SH5050 e
 957 P32R48) inoculados com uma mistura de três espécies de *Azospirillum*, relataram que
 958 cada híbrido testado apresentou um resultado diferente com a inoculação, no qual, a
 959 inoculação de *Azospirillum* aumentou o teor relativo de clorofila e o rendimento da

960 matéria seca da parte aérea dos híbridos AS 1575 e SHS 5050, o peso de 1000 grãos
 961 do híbrido P32R48 e a estatura de planta do híbrido AS 1575. Os autores ainda
 962 mencionam que a inoculação pode ser mais eficiente em determinados híbridos ou
 963 cultivares, em relação a outros.

964 Cadore et al. (2016) avaliando a inoculação com *Azospirillum* sobre 10 híbridos,
 965 inclusive o utilizado no presente estudo (DKB 390), concluíram que a inoculação não
 966 gerou incrementos nas variáveis analisadas.

967 Portugal et al. (2017) citaram que a falta e o excesso de N no solo podem limitar
 968 a fixação biológica. É importante salientar, que na presente pesquisa foram utilizados
 969 no total 100 kg ha⁻¹ de N para todos os tratamentos. Segundo Brancchini et al. (2012)
 970 e Quadros et al. (2014) os fatores como clima, tipo de solo, cultivar, comunidade
 971 microbiana e formas de aplicação podem interferir na relação associativa entre a
 972 planta de milho e a bactéria *Azospirillum brasilense*.

973 Observou-se interação entre as fontes de variação culturas antecessoras e
 974 inoculação de *Azospirillum brasilense* para a variável massa de mil grãos (Tabela 12).
 975

976 **Tabela 12.** Resumo da análise de variância (Pr (>F_c)) para: bloco, culturas
 977 antecessoras, inoculação com *Azospirillum brasilense* e suas interações
 978 para número de fileiras de grãos (NFGE), número de grãos por fileira
 979 (NGF), comprimento de grão (COMGR), massa de mil grãos (P1000) e
 980 produtividade (PROD) de milho.

Fonte de variação	Pr (>F _c)					
	NFGE	NGF	COMGR	GESP	P1000	PROD
Bloco	0,350 ^{ns}	0,153 ^{ns}	0,024 ^{**}	0,210 ^{ns}	0,004 ^{***}	0,099 [*]
Culturas	0,765 ^{ns}	0,294 ^{ns}	0,495 ^{ns}	0,106 ^{ns}	0,033 ^{**}	0,135 ^{ns}
Inoculação	0,759 ^{ns}	0,487 ^{ns}	0,727 ^{ns}	0,279 ^{ns}	0,132 ^{ns}	0,746 ^{ns}
Culturas*Inoculação	0,255 ^{ns}	0,110 ^{ns}	0,706 ^{ns}	0,115 ^{ns}	0,058 [*]	0,172 ^{ns}
CV ¹ (%)	2,64	5,03	5,45	4,46	3,57	9,75
CV ² (%)	3,25	4,33	6,66	3,45	3,42	7,36

981 *** significativo a 1% de probabilidade (p < 0,01), ** significativo a 5% de probabilidade (0,01 =< p <
 982 0,05), * significativo a 10% de probabilidade (0,05 > p < 0,10) ^{ns} não significativo (p > 0,10), CV¹:
 983 coeficiente de variação da parcela (culturas), CV²: coeficiente de variação da sub-parcela (inoculação).
 984

985 Não foi detectada influência das culturas antecessoras no milho sem inoculação
 986 para massa de mil grãos (Tabela 13). Todavia, verifica-se diferença significativa na
 987 combinação culturas antecessoras e milho com inoculação, no qual, o cultivo
 988 antecessor com soja e feijão foi superior em relação a braquiária (com e sem

989 inoculação). O milho com inoculação foi superior em relação ao milho sem inoculação
990 apenas onde o cultivo antecessor foi a soja.

991

992 **Tabela 13.** Desdobramento da interação para culturas antecessoras dentro dos níveis
993 de inoculação com *Azospirillum brasilense* para massa de mil grãos de
994 milho.

Culturas Antecessoras	Milho sem inoculação	Milho com inoculação
Soja	255,86 aB	263,58 aA
Feijão	245,46 aA	258,10 aA
Braquiária com inoculação	242,97 aA	250,39 bA
Braquiária sem inoculação	246,63 aA	238,41 cA

995 Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem
996 significativamente pelo teste Scott-knott 5% de probabilidade.
997

998 Os resultados mostram que nas condições edafoclimáticas em que a pesquisa
999 foi conduzida, a cultura antecessora soja e o milho com inoculação foram eficientes
1000 em incrementar na massa de mil grãos, porém, esse incremento não foi suficiente
1001 para refletir em produtividade.

1002 Gitti et al. (2012) estudando coberturas vegetais, doses de nitrogênio e
1003 inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* em arroz de terras altas no
1004 sistema plantio direto, concluíram que os cultivos antecessores influenciaram a
1005 produtividade do arroz, sendo a maior produção alcançada após o cultivo de guandu
1006 e a menor após o cultivo de braquiária, e que a inoculação das sementes com
1007 *Azospirillum brasilense* não influenciou a produtividade do arroz.

1008 Resultados obtidos por Portugal et al. (2017), avaliando as coberturas vegetais
1009 (milheto, crotalária, guandu, milheto/crotalária, milheto/guandu e pousio), doses de
1010 nitrogênio e inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho no Cerrado, mostram
1011 que o tratamento com crotalária proporcionou maior massa de mil grãos. Os autores
1012 atribuem esse efeito a sua baixa relação C/N, conseqüentemente, obtendo maior taxa
1013 de decomposição, suprindo a cultura subsequente com N, produzindo grãos com
1014 massa superior.

1015 O trabalho mencionado acima, ajuda a dar sustentação aos resultados obtidos
1016 no presente estudo, onde notou-se que o cultivo antecessor com soja e feijão
1017 proporcionaram maior massa de mil grãos em relação a braquiária (com e sem
1018 inoculação) no milho com inoculação.

1019 Portugal et al. (2017) mencionam ainda que a inoculação com *Azospirillum*
1020 *brasilense* propiciou resultados negativos para a massa de mil grãos e a produtividade
1021 de grãos de milho.

1022 Já Sabundjian et al. (2013), avaliando a cultura do feijoeiro em sucessão ao
1023 cultivo solteiro e consorciado de milho e *Urochloa ruziziensis* inoculados com
1024 *Azospirillum brasilense*, constataram que as culturas antecessoras apresentaram
1025 efeitos na produtividade do feijoeiro, sendo o consórcio de milho e *Urochloa*
1026 *ruziziensis*, ambos inoculados, a melhor opção.

1027

1028

1029

1030

1031

1032

1033

1034

1035

1036

1037

1038

1039

1040

1041

1042

1043

1044

1045

1046

1047

1048

1049

1050

1051

1052

1053 3.4 Conclusões

1054

1055 Os resíduos das culturas antecessoras proporcionam alterações nos
1056 componentes fisiológicos, morfológicos e da produção, sem alterarem a
1057 produtividade de grãos de milho.

1058 A inoculação com *Azospirillum brasilense* no milho proporciona benefícios
1059 ao desenvolvimento das plantas, porém, não é suficiente para proporcionar ganhos
1060 na produtividade de grãos.

1061

1062

1063

1064

1065

1066

1067

1068

1069

1070

1071

1072

1073

1074

1075

1076

1077

1078

1079

1080

1081

1082

1083

1084

1085

1086 **3.5 Referências**

1087

1088 AGOSTINETTO, D.; FERREIRA, F. B.; STOCH, G.; FERNANDES, F. F.; PINTO, J. J.
1089 O. Adaptação de espécies utilizadas para cobertura de solo no sul do rio grande do
1090 sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 6, n. 1, p. 47-52, 2000.

1091 ALCÂNTARA, F. A.; FURTINI NETO, A. E.; PAULA, M. B.; MESQUITA, H. A.; MUNIZ,
1092 J. A. Adubação verde na recuperação da fertilidade de um solo Latossolo vermelho-
1093 escuro degradado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 2, p. 277-
1094 288, 2000.

1095 ALVES, T. S.; CAMPOS, LENZA, L.; ELIAS NETO, N.; MATSUOKA, M.; LOUREIRO,
1096 M.F. Biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e diferentes
1097 sistemas de manejos. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 341-347, 2011.

1098 AOAC - **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis.
1099 13.ed. Washington: AOAC, 1990. 1015 p.

1100 BASHAN, Y.; LEVANONY, H. Current status of Azospirillum inoculation technology:
1101 Azospirillum as a challenge for agriculture. **Canada Journal of Microbiology**, Ottawa,
1102 v. 36, n. 9, p. 593-596, 1990.

1103 BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na**
1104 **cultura do milho**, 2013. 63 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Produção
1105 Vegetal) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.

1106 BHERING, L. L. Rbio: A tool for biometric and statistical analysis using the R platform.
1107 **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.17, n. 2, p.187-190, 2017.

1108 BRACCINI, A. L.; DAN, L. G. M.; PICCININ, G. G.; ALBRECHT, L. P.; BARBOSA, M.
1109 C.; ORTIZ, A. H. T. Seed Inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the
1110 use of bioregulators in maize. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 58-64, 2012.

1111 BRASIL. **Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária**. Regras para análise de
1112 sementes. Brasília: MAPA, 1992. 365 p.

1113 CADORE, R.; NETTO, A. P. C.; REIS, E. F.; RAGAGNIN, V. A.; FREITAS, D. S.; LIMA,
1114 T. P.; ROSSATO, M.; D'ABADIA, A. C. A. Híbridos de milho inoculados com

- 1115 *Azospirillum brasilense* sob diferentes doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de**
1116 **Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 15, n. 3, p. 399-410, 2016.
- 1117 CALONEGO, J. C.; GIL, F. C.; ROCCO, V. F.; SANTOS, E. A. Persistência e liberação
1118 de nutrientes da palha de milho, braquiária e labe-labe. **Bioscience Journal**,
1119 Uberlândia, v. 28, n. 5, p. 770-781, 2012.
- 1120 COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB), **Acompanhamento da**
1121 **safrã brasileira de grãos**. Vol. 5, n. 4, 2018. Disponível em: <www.conab.gov.br>
1122 Acesso em: 22 de Abril, 2018.
- 1123 COSTA, F. A.; BITTAR, D. Y.; SILVA, E. R. Características morfológicas na cultura do
1124 milho adubado com nitrogênio em diferentes estádios fenológicos. **Ipê Agronomic**
1125 **Journal**, Goianésia, v. 2, n. 1, p. 4-13, 2018.
- 1126 COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. S. F.; NAVES, D. C. F.; SANTOS, C. B.; ROCHA,
1127 A. F. S. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of
1128 second-harvest maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 304-
1129 311, 2015.
- 1130 CRUZ, J.C.; GARCIA, J.C.; FILHO, I. A. P.; PINTO, L. B. B.; QUEIROZ, L.R.
1131 **Caracterização dos sistemas de produção de milho para altas produtividades**.
1132 Circular Técnica nº 124, Sete Lagoas, MG, EMBRAPA, 2009.
- 1133 GITTI, D. C.; ARF, O.; PORTUGAL, J. R.; CORSINI, D. C. D. C.; RODRIGUES, R. A.
1134 F.; KANEKO, F. H. Coberturas vegetais, doses de nitrogênio e inoculação de
1135 sementes com *Azospirillum brasilense* em arroz de terras altas no sistema plantio
1136 direto. **Bragantia**, Campinas, v. 71, n. 4, p. 509-517, 2012.
- 1137 HARGROVE, W. L. Winter legumes as a nitrogen source for no-till grain sorghum.
1138 **Agronomy Journal**, Madison, v. 78, n. 1, p. 70-74, 1986.
- 1139 INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. **Dados Históricos, 2018**. Disponível
1140 em:<<http://www.inmet.gov.br>> Acesso em: 03 de outubro de 2018.
- 1141 KAPPES, C.; ANDRADE, J. A. DA C.; ARF, O.; OLIVEIRA, A. C.; ARF, M. V.;
1142 FERREIRA, J. P. Desempenho de híbridos de milho em diferentes arranjos espaciais
1143 de plantas. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 2, p. 334-343, 2011.

- 1144 KAPPES, C.; ARF, O.; BEM, E. A. D.; PORTUGAL, J. R.; GONZAGA, A. R. Manejo
1145 do nitrogênio em cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto. **Revista**
1146 **Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.13, n. 2, p. 201-217, 2014.
- 1147 LOURENTE, E. R. P.; MERCANTE, F. M.; MARCHETTI, M. E.; SOUZA, L. C. F. DE;
1148 SOUZA, C. M. A. DE; GONÇALVES, M. C.; SILVA, M. A. G. Rotação de culturas e
1149 relações com atributos químicos e microbiológicos do solo e produtividade do milho.
1150 **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 829-842, 2010.
- 1151 MARASCA, I.; MEDEIROS, L. C.; ARAÚJO, M. J.; PERIN, A.; OLIVEIRA, C. A. A.
1152 Teores e acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio e decomposição da biomassa de
1153 braquiária em sistema santa fé. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 7, n. 12, p. 1-9,
1154 2011.
- 1155 MEGURO, N. E.; MAGALHÃES, A. C. Atividade da redutase de nitrato em cultivares
1156 de café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 1725-1731, 1982.
- 1157 MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias
1158 diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações.
1159 **Comunicata Scientiae**, Teresina, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.
- 1160 OLIVEIRA, V. C.; ANDRADE, L. O. Efeito da adubação orgânica na formação de
1161 nódulos radiculares em cultivares de feijão macassar. **Revista Agropecuária**
1162 **Científica no Semiárido**, Campina Grande, v. 10, n. 2, p. 50-54, 2014.
- 1163 PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; PERES, A. R.; GITTI, D. C.; GARCIA, N. F. S. Coberturas
1164 vegetais, doses de nitrogênio e inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho no
1165 Cerrado. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 48, n. 4, p. 639-649, 2017.
- 1166 PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; PERES, A. R.; GITTI, D. de C.; RODRIGUES, R. A. F.;
1167 GARCIA, N. F. S.; GARÉ, L. M. *Azospirillum brasilense* promotes increment in corn
1168 production. **Academic Journals**, Lagos, v. 11, n. 19, p. 1688-1698, 2016.
- 1169 PRIMAVESI, A. **O manejo ecológico do solo**. 4 ed. São Paulo: Nobel, 1982. 552 p.
- 1170 QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D.
1171 D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho
1172 inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.

- 1173 RADWAN, T. E. E.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de
1174 *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de
1175 milho e arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 10, p. 987-994,
1176 2004.
- 1177 ROSSI, C. Q.; PEREIRA, M. G.; GIÁCOMO, S. G.; BETTA, M.; POLIDORO, J. C.
1178 Decomposição e liberação de nutrientes da palhada de braquiária, sorgo e soja em
1179 áreas de plantio direto no cerrado goiano. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.
1180 34, n. 4, p. 1523-1534, 2013.
- 1181 SABUNDJIAN, M. T.; ARF, O.; KANEKO, F. H.; FERREIRA, J. P. Adubação
1182 nitrogenada em feijoeiro em sucessão a cultivo solteiro e consorciado de milho e
1183 *Urochloa ruziziensis*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 3, p. 292-
1184 299, 2013.
- 1185 SILVA, F. C.; SILVA, M. M.; LIBADI, P. L. Aplicação de nitrogênio no cultivo de milho,
1186 sob sistema plantio direto: efeitos na qualidade física do solo e características
1187 agronômicas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 3513-3528, 2013.
- 1188 SILVA, S. M.; OLIVEIRA, L. J.; FARIA, F. P.; REIS, E. F.; CARNEIRO, M. A. C.; SILVA,
1189 S. M. Atividade da enzima nitrato redutase em milho cultivado sob diferentes níveis de
1190 adubação nitrogenada e potássica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 11, p. 1931-
1191 1937, 2011.
- 1192 SORATTO, R. P.; CRUSCIOL, C. A. C.; COSTA, C. H. M.; FERRARI NETO, J.;
1193 CASTRO, G. S. A. Produção, decomposição e ciclagem de nutrientes em resíduos de
1194 crotalária e milheto, cultivados solteiros e consorciados. **Pesquisa Agropecuária**
1195 **Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 10, p. 1462-1470, 2012.
- 1196 SOUSA, D. M. G. de; LOBATO, E. **Calagem e adubação para culturas anuais e**
1197 **semiperenes**. In: (Ed.). Cerrado: correção do solo e adubação. Brasília: Embrapa
1198 Informação Tecnológica, 2. ed, Cap.12, p.283-315. 2004.
- 1199 SOUSA, L. C. F.; FEDATTO, E.; GONÇALVES, M. C.; SOBRINHO, T. A.;
1200 HOOGERHEIDE, H. C.; VIEIRA, V. V. Produtividade de grãos de milho irrigado em
1201 função da cultura antecessora e de doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Milho**
1202 **e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 2, n. 2, p. 44-51, 2003.

- 1203 TAIZ. L.; ZEIGER. E. **Fisiologia vegetal**. 3^o ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2006.
1204 722 p.
- 1205 TORRES, J. L. R.; PEREIRA, M. G.; ANDRIOLI, I.; POLIDORO, J. C.; FABIAN, A. J.
1206 Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura
1207 em um solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, n. 4,
1208 p. 609-618, 2005.
- 1209 VENZKE FILHO, S. P.; FEIGL, B. J.; PICCOLO, M, C.; SIQUEIRA NETO, M.; CERRI,
1210 C. C. Biomassa microbiana do solo em sistema de plantio direto na região de Campos
1211 Gerais - Tibagi, PR. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 2, p.
1212 599-610, 2008.

1213 **4. CAPÍTULO III - DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO SEGUNDA SAFRA**
1214 **EM FUNÇÃO DOS MÉTODOS DE INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense***
1215

1216 **RESUMO** - Objetivou-se com essa pesquisa avaliar o desempenho agronômico do
1217 milho segunda safra em função das formas de inoculação com *Azospirillum*
1218 *brasilense*. O experimento foi constituído de 6 tratamentos estabelecidos em
1219 delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos
1220 corresponderam ao T1: sem inoculação nas sementes; T2: inoculação com
1221 *Azospirillum brasilense* nas sementes; T3: inoculação com *Azospirillum brasilense* via
1222 sulco de semeadura; T4: inoculação com *Azospirillum brasilense* via aplicação foliar;
1223 T5: duas aplicações foliares com *Azospirillum brasilense*; T6: combinação dos três
1224 métodos anteriores: inoculação nas sementes, inoculação via sulco de semeadura e
1225 inoculação via aplicação foliar. Foram avaliados os componentes fisiológicos,
1226 morfológicos, de produção e produtividade do milho segunda safra. Os dados foram
1227 submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade e quando constatado
1228 significância procedeu-se a aplicação do teste Scott-Knott a 5% de probabilidade,
1229 utilizando-se o programa estatístico R-bio. A inoculação via tratamento de sementes
1230 proporcionou maior atividade da enzima nitrato redutase. As formas de inoculação
1231 com *Azospirillum brasilense* no milho segunda safra não proporciona ganhos na
1232 produtividade de grãos. A inoculação no sulco de semeadura e duas aplicações
1233 foliares proporcionaram maior teor de proteína bruta nas folhas do milho.

1234

1235 **Palavras-chave:** *Zea mays*, bactérias diazotróficas, fixação biológica do nitrogênio,
1236 produtividade de grãos

1237 **AGRONOMIC PERFORMANCE OF SECOND CROP CORN IN THE FUNCTION OF**
1238 **FORMS OF INOCULATION WITH *Azospirillum brasilense***
1239

1240 **Abstract:** The aimed of this research was to evaluate the agronomic performance of
1241 second crop corn as a function of the inoculation with *Azospirillum brasilense*. The
1242 experiment consisted of 6 treatments conditioned to the randomized block design, with
1243 four replications. The treatments corresponding to T1: without inoculation in the seeds;
1244 T2: inoculation with *Azospirillum brasilense* in the seeds; T3: inoculation with
1245 *Azospirillum brasilense* via sowing furrow; T4: inoculation with *Azospirillum brasilense*
1246 via leaf application; T5: two leaf applications with *Azospirillum brasilense*; T6:
1247 combination of three previous inoculations: seed inoculation plus inoculation via
1248 sowing furrow and inoculation via leaf application. The physiological, morphological,
1249 production and yield components of second crop corn. The data were analyzed by 5%
1250 probability variance and with significance of the application of the Scott-Knott test to
1251 5% using the statistical program R-bio. Inoculation via seed treatment provided higher
1252 activity of the nitrate reductase enzyme. The inoculation with *Azospirillum brasilense*
1253 on second crop maize does not provide gains in grain yield. Seed inoculation and two
1254 leaf applications provided higher crude protein content in corn leaves.

1255

1256 **Key words:** *Zea mays*, diazotrophic bacteria, biological nitrogen nutrition, grain yield

1257 4.1 Introdução

1258 O nitrogênio é um dos nutrientes que mais interfere na produtividade e o que
1259 mais onera o custo produtivo em culturas não leguminosas (NUNES et al., 2015). Além
1260 do alto custo (BRANCINI et al., 2016), os fertilizantes nitrogenados utilizados na
1261 agricultura moderna são oriundos de combustíveis fósseis não renováveis
1262 (NOVAKOWISKI et al., 2011), aumentando as preocupações com uma agricultura
1263 mais sustentável e menos poluente, resultando em crescente interesse no uso de
1264 inoculantes contendo bactérias que promovam o crescimento das plantas e aumentam
1265 o rendimento das culturas (HUNGRIA et al., 2010).

1266 Existe grande interesse em práticas alternativas que visem a redução na
1267 aplicação e o aumento da eficiência na utilização de insumos nas áreas de produção
1268 agrícola. Uma alternativa dentre os processos biológicos que ocorrem na natureza é
1269 a fixação biológica do nitrogênio atmosférico realizada por um grupo de bactérias
1270 denominadas diazotróficas (KAPPES et al., 2013; VASCONCELOS et al., 2016).

1271 As bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* realizam o processo de
1272 transformação do N₂ atmosférico na forma inorgânica combinando com H⁺ formando
1273 amônia (NH₃⁺), e a partir daí, em formas reativas orgânicas e inorgânicas
1274 (NOVAKOWISKI et al., 2011). Entre os benefícios promovidos pela inoculação com
1275 *Azospirillum*, incluem especialmente o maior desenvolvimento do sistema radicular e,
1276 conseqüentemente, maior absorção de água e nutrientes promovendo efeito benéfico
1277 na produtividade e rendimentos das culturas (STETS et al., 2015; GALINDO et al.,
1278 2016). As bactérias *Azospirillum brasilense* possuem a habilidade em fixar o N
1279 atmosférico (HUNGRIA et al., 2010), além de produzir fito-hormônios, como ácido
1280 indol-acético, citocininas e giberelinas (MOREIRA et al., 2010).

1281 O maior entrave para a utilização desta tecnologia, está relacionado a
1282 inconsistência de resultados. A relação associativa entre as bactérias diazotróficas e
1283 a planta de milho em termos de potencial agrônômico, fixação de nitrogênio ou
1284 promoção do crescimento, dependem de muitos fatores bióticos e ambientais, tais
1285 como genótipo da planta, comunidade microbológica do solo e disponibilidade de
1286 nitrogênio (ROESCH et al., 2006).

1287 Outro fator determinante no aumento da eficiência da relação bactéria x planta
1288 é a forma de inoculação do *Azospirillum brasilense* no milho. A inoculação pode ser
1289 realizada de diferentes formas, gerando diferentes respostas no desenvolvimento e

1290 produção das culturas inoculadas (BRACCINI et al., 2016). As principais formas de
1291 inoculação realizada na cultura do milho são: a) inoculação nas sementes; b) no sulco
1292 de semeadura e c) via foliar.

1293 Comumente a inoculação com *Azospirillum brasilense* é realizada no
1294 tratamento de semente. Todavia, essa prática tornou-se inviável visto que a semente
1295 de milho é geralmente comercializada com produtos fitossanitários e a necessidade
1296 de tratar a semente novamente com a bactéria não interessa ao agricultor (MORAIS
1297 et al., 2016). Além disso, os inseticidas e fungicidas utilizados no tratamento de
1298 semente podem comprometer a viabilidade dessa bactéria.

1299 Entretanto, os estudos envolvendo as várias formas de inoculação apresentam
1300 inconsistência quanto aos resultados, o que dificulta uma recomendação mais prática.
1301 Desta forma, há a necessidade de se aumentar a quantidade de estudos, comparando
1302 as diferentes formas de inoculação com *Azospirillum brasilense*, afim de se obter
1303 maior segurança para a recomendação. A inoculação realizada no sulco de
1304 semeadura e pulverizações foliares são formas alternativas tecnicamente
1305 recomendadas.

1306 Tendo em vista a importância da fixação biológica de nitrogênio, objetivou-se
1307 avaliar o desempenho agrônômico do milho segunda safra em função dos métodos
1308 de inoculação com *Azospirillum brasilense*.

1309

1310

1311

1312

1313

1314

1315

1316

1317

1318

1319

1320

1321

1322

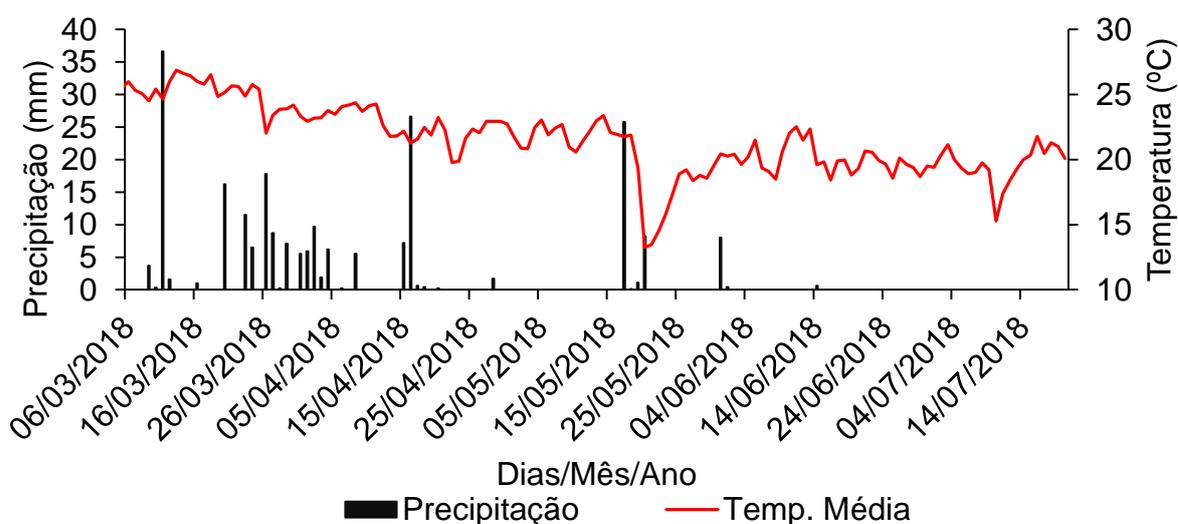
1323 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

1324 4.2.1 Localização e caracterização da área experimental

1325 A pesquisa foi conduzida entre os meses de março e julho de 2018 (segunda
1326 safra) no campo experimental da Universidade Federal de Goiás (UFG), Regional
1327 Jataí, localizado no município de Jataí-GO. A localização geográfica da área
1328 experimental está definida pelas seguintes coordenadas: 17°55'32" S e 51°42'32" O
1329 e 685 m de altitude.

1330 O clima da região, segundo a classificação de Koopen, é do tipo Aw, com duas
1331 estações bem definidas, seca (abril-setembro) e chuvosa (outubro-março) com
1332 temperatura e precipitação média anual de 22 °C e 1.800 mm, respectivamente. Na
1333 Figura 1 encontram-se os dados meteorológicos mensurados durante o período de
1334 condução do experimento.

1335



1346 **Tabela 1.** Caracterização química do solo, na camada de 0 a 20 cm, da área
1347 experimental antes da instalação do experimento, Jataí – GO, 2018.

pH	M.O. CaCl ₂ g kg ⁻¹	P (mel.) mg dm ⁻³	K		Ca	Mg	Al	H+Al	
		Zn		Cu	Na	S	B	V	CTC
		mg dm ⁻³						%	cmol _c dm ⁻³
5,10	40,40	7,70		0,20	4,14	2,12	0,05	4,00	
30,00	50,10	2,70	7,10	2,60	4,00	0,20	61,50	10,50	

1348

1349 4.2.2 Tratamentos e delineamento experimental

1350 O experimento foi constituído por 6 tratamentos estabelecidos em delineamento
1351 de blocos casualizados (DBC), com quatro repetições, onde, cada parcela possuía
1352 área equivalente a 13,50 m² (2,25 m de largura x 6 m de comprimento). A área útil foi
1353 composta por três linhas centrais com 4 metros de comprimento, espaçadas em 0,45
1354 m, considerando como bordadura uma linha para cada lado e 1 m em cada
1355 extremidade da parcela.

1356 Os tratamentos corresponderam ao T1: sem inoculação nas sementes, T2:
1357 inoculação com *Azospirillum brasilense* nas sementes, na dose de 100 mL de
1358 inoculante por hectare, T3: inoculação com *Azospirillum brasilense* via sulco de
1359 semeadura na dose 300 mL ha⁻¹, T4: inoculação com *Azospirillum brasilense* via
1360 aplicação foliar na dose 500 mL ha⁻¹ realizada no estágio vegetativo V3 (presença de
1361 3 folhas totalmente expandidas) da cultura do milho, T5: duas aplicações foliares com
1362 *Azospirillum brasilense*, a primeira foi realizada no estágio vegetativo V3 (dose 500
1363 mL ha⁻¹) e a segunda pulverização foi efetuada no estágio vegetativo V6 (presença de
1364 6 folhas totalmente expandidas) na dosagem 500 mL ha⁻¹, T6: combinação dos
1365 métodos: inoculação nas sementes (100 mL para 25 kg de sementes), inoculação via
1366 sulco de semeadura (300 mL ha⁻¹) e inoculação via aplicação foliar realizada em V3
1367 (500 mL ha⁻¹).

1368 A dessecação foi realizada no dia 07 de março 2018, objetivando-se o controle
1369 de plantas pré-existentes na área utilizando o herbicida Gramoxone® (paraquate 200
1370 g L⁻¹ de ingrediente ativo) na dose de 2,0 L ha⁻¹ do produto comercial, antes da
1371 semeadura do milho segunda safra.

1372 As sementes foram tratadas com o produto Standak top® na dosagem 200 ml
1373 p.c. 100 kg de sementes⁻¹, composto por fungicida de ação protetora (piraclostrobina
1374 20 g L⁻¹), inseticida sistêmico (metil tiofanato 225 g L⁻¹) e inseticida de contato e

1375 ingestão (250 g L⁻¹ Fipronil), do grupo das estrobilurinas, benzimidazol e pirazol,
1376 respectivamente. A semeadura do milho segunda safra foi realizada manualmente, no
1377 dia 08 de março de 2018, utilizando-se o híbrido Dekalb 390 VT PRO 2, distribuindo
1378 3,0 sementes por metro, com o objetivo de se obter população final igual a 66.666
1379 plantas ha⁻¹.

1380 Utilizou-se o inoculante líquido Azokop® da empresa Koppert Biological
1381 Systems com a espécie *Azospirillum brasilense*, estirpe AbV5 + AbV6, na
1382 concentração bacteriana de 1,8x10⁸ Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mL.
1383 A inoculação com *Azospirillum brasilense* via semente foi realizada após o tratamento
1384 de sementes com Standak top® na ocasião da semeadura. A inoculação via sulco de
1385 semeadura e pulverização foliar foi realizada com o auxílio de um pulverizador costal
1386 pressurizado por CO₂, munido de barra com pontas jato cone vazio, pressão constante
1387 e vazão de calda aproximada de 120 L ha⁻¹.

1388 Na adubação de semeadura foram aplicados à lanço 50 kg ha⁻¹ de nitrogênio
1389 (N) (via ureia), 72 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (fonte superfosfato simples) e 60 kg ha⁻¹ de K₂O (via
1390 cloreto de potássio). A adubação em cobertura foi realizada no estágio vegetativo V3
1391 da cultura do milho, distribuindo a lanço 50 kg ha⁻¹ de N (via ureia). A adubação de
1392 semeadura e cobertura foi estabelecida de acordo com os resultados da análise de
1393 solo e a expectativa de rendimento da cultura do milho conforme Souza & Lobato
1394 (2004).

1395 No dia 16 de março de 2018 realizou-se o controle das plantas daninhas em
1396 pós-emergência utilizando a associação do herbicida atrazina (2,0 L ha⁻¹) e glifosato
1397 (2,0 L ha⁻¹). As aplicações dos produtos fitossanitários foram realizadas com
1398 pulverizador de barras tratorizado, com volume de calda equivalente a 120 L ha⁻¹.

1399 Para a população inicial, no dia 31 de março de 2018 realizou-se a contagem
1400 do número de plantas presentes na área útil de cada parcela, com os resultados
1401 extrapolados para plantas ha⁻¹.

1402 Para a mensuração da atividade da enzima nitrato redutase coletou-se a última
1403 folha completamente expandida de três plantas dentro da área útil de cada parcela,
1404 quando as plantas de milho se encontravam no estágio vegetativo V3. A quantificação
1405 da atividade da enzima nitrato redutase, foi determinada utilizando a metodologia
1406 descrita por Meguro & Magalhães (1982).

1407 No estágio reprodutivo R1 (embonecamento e polinização, estilo-estigma
1408 visíveis para fora das espigas), foram efetuadas as avaliações a campo das

1409 características agronômicas. Foram avaliadas 10 plantas ao acaso na área útil de
1410 cada parcela e mensurados a altura da planta, altura da inserção da primeira espiga,
1411 diâmetro do colmo, teor de clorofila Falker (realizando a leitura das folhas oposta e
1412 abaixo da espiga, com o aparelho clorofilog CFL 1030 Falker).

1413 Foram coletadas 10 folhas opostas e abaixo da espiga na área útil de cada
1414 parcela, descartando as extremidades e a nervura central. Posteriormente, a parte
1415 mediana das folhas foi encaminhada para laboratório para a quantificação da matéria
1416 mineral e teor de proteína bruta utilizando-se a metodologia descrita por AOAC (1990).

1417 Antes da colheita, no dia 15 de julho de 2018, foi quantificado a população final
1418 e número de espigas por plantas contabilizando todas as plantas e espigas presentes
1419 na área útil com os resultados extrapolados para hectare.

1420 Após a colheita, realizada no dia 20/07/2018 (134 dias após a emergência),
1421 foram mensurados de uma amostra de 10 espigas coletadas dentro da área útil de
1422 cada parcela os seguintes componentes da produção: comprimento de espiga;
1423 diâmetro de espiga (porção mediana da espiga); quantidade de fileiras por espiga;
1424 quantidade de grãos por fileiras; quantidade de grãos por espiga; diâmetro de sabugo
1425 e comprimento dos grãos. A produtividade foi obtida a partir da trilha mecânica e
1426 aferição da massa dos grãos oriundo de todas as espigas colhidas na área útil das
1427 parcelas. A massa de mil grãos foi obtida utilizando a metodologia descrita em Brasil
1428 (1992).

1429

1430 **4.2.3 Análise estatística**

1431 Para a análise estatística dos dados utilizou-se o programa estatístico R bio
1432 (BHERING, 2017). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F a
1433 5% de probabilidade. As médias referentes à fonte de variação métodos de inoculação
1434 com *Azospirillum brasilense* foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de
1435 probabilidade.

1436 4.3 Resultados e Discussão

1437

1438 Ao analisar os dados observa-se que a temperatura do ar esteve próxima a
 1439 considerada adequada para a cultura do milho durante a condução do experimento,
 1440 com temperatura média variando entre 15 a 27 °C (Figura 1). Segundo Kappes et al.
 1441 (2014) as condições ideais para o bom desenvolvimento da cultura são temperaturas
 1442 médias diárias variando entre 18 e 25 °C.

1443 A precipitação total registrada durante a condução do experimento foi de 227
 1444 mm. Segundo Fancelli & Dourado Neto (2004) a necessidade hídrica satisfatória para
 1445 um bom desenvolvimento da cultura do milho situa-se entre 350 e 500 mm. Portanto,
 1446 constata-se que a pluviometria ficou abaixo do ideal exigido pela cultura.

1447 O resumo da análise de variância (valores de F) para diâmetro de colmo, altura
 1448 de inserção de espiga, altura de plantas, matéria mineral, proteína bruta, índice de
 1449 clorofila Falker e atividade da enzima nitrato redutase, encontra-se na Tabela 2.
 1450 Verifica-se que houve diferença significativa para as variáveis teor de proteína bruta e
 1451 atividade da enzima nitrato redutase.

1452

1453 **Tabela 2.** Resumo da análise de variância (Teste F) para as fontes de variação bloco
 1454 e tratamentos para as variáveis diâmetro de colmo (DCOL), altura de
 1455 inserção de espiga (AINE), altura de plantas (ALP), matéria mineral (MM),
 1456 proteína bruta (PB), índice de clorofila Falker (ICF) e atividade da enzima
 1457 nitrato redutase (ARN).

FV	DCOL	AINE	ALP	MM	PB	ICF	ARN
	mm	Cm	cm	g	%		NO ₂ - H ⁻¹ g ⁻¹ MF
Blocos	5,29*	0,47 ^{ns}	1,93 ^{ns}	1,75 ^{ns}	1,06 ^{ns}	3,70*	2,55 ^{ns}
Tratamentos	0,87 ^{ns}	1,02 ^{ns}	0,73 ^{ns}	0,26 ^{ns}	3,86 *	0,38 ^{ns}	37,39**
Médias	25,06	137	248	9,22	13,02	78,05	0,167
CV%	3,19	3,53	1,76	7,35	1,4	3,24	20,02

1458 ** significativo a 1% de probabilidade (p < 0,01). * significativo a 5% de probabilidade (0,01 =< p < 0,05).
 1459 ns não significativo (p >= 0,05). CV: coeficiente de variação.

1460

1461 Para a variável proteína bruta, o teste Scott-Knott separou os tratamentos em
 1462 dois grupos. Nota-se que a inoculação com *Azospirillum brasilense* no sulco de
 1463 semeadura e duas aplicações foliares proporcionaram maior teor de proteína bruta
 1464 quando comparados aos demais tratamentos (Tabela 3). Morais et al. (2016),
 1465 verificaram que a inoculação via sulco de semeadura foi tão eficiente quanto a

1466 inoculação nas sementes. Os autores mencionam que a vantagem da inoculação via
 1467 sulco refere-se à sua praticidade no campo (dispensando a realização novamente do
 1468 tratamento de sementes) e a redução na incompatibilidade com os produtos
 1469 fitossanitários utilizados no tratamento de sementes que podem causar toxicidade às
 1470 bactérias.

1471

1472 **Tabela 3.** Teor de proteína bruta (%) na folha do milho segunda safra em função das
 1473 formas de inoculação com *Azospirillum brasilense*.

Tratamentos	Proteína bruta
T3. Inoculação no sulco	13,35 a
T5. Duas aplicações foliares	13,13 a
T2. Inoculação nas sementes	12,96 b
T1. Sem inoculação	12,94 b
T6. Inoculação nas sementes, sulco e foliar	12,91 b
T4. Uma aplicação foliar	12,88 b

1474 As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Scott-Knott a
 1475 5% de probabilidade.
 1476

1477 Com relação a atividade da enzima nitrato redutase, foi possível separar os
 1478 tratamentos em cinco grupos (Tabela 4). A forma de inoculação com *Azospirillum*
 1479 *brasilense* nas sementes, proporcionou maior atividade da enzima nitrato redutase
 1480 comparada aos demais tratamentos. Os métodos de inoculação no sulco (T3) e
 1481 inoculação nas sementes, no sulco e foliar (T6) são os únicos pertencentes a um
 1482 mesmo grupo.

1483 Trabalhos conduzido por Aliasgharзад et al. (2014) na cultura do trigo,
 1484 avaliando quatro cepas de *Azospirillum* (*A. lipoferum* AC45-II, *A. brasilense* AC46-I,
 1485 *A. irakense* AC49-VII e *A. irakense* AC51-VI) sob condições de déficit hídricos
 1486 concluíram que todas as cepas bacterianas causaram um aumento significativo na
 1487 atividade da enzima nitrato redutase em comparação ao tratamento controle, sem
 1488 inoculação. Em contrapartida, estudos realizados por Cadore et al. (2016), na cultura
 1489 do milho, conduzidos nas mesmas condições edáficas em que o presente estudo foi
 1490 realizado, não detectaram efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* nas
 1491 sementes para a variável atividade da enzima nitrato redutase.

1492 **Tabela 4.** Atividade da enzima nitrato redutase (no milho segunda safra em função
 1493 das formas de inoculação com *Azospirillum brasilense* em $\mu\text{moles de NO}_2^-$
 1494 $\text{H}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$.

Tratamentos	Nitrato redutase
T2. Inoculação nas sementes	14,54 a
T5. Duas aplicações foliares	11,36 b
T1. Sem inoculação	7,40 c
T3. Inoculação no sulco	5,00 d
T6. Inoculação nas sementes, sulco e foliar	4,95 d
T4. Uma aplicação foliar	2,09 e

1495 As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Scott-Knott a
 1496 5% de probabilidade.

1497

1498 Marschner (1995) menciona que a atividade da enzima nitrato redutase é
 1499 induzida pelo substrato, ou seja, pelo teor de nitrogênio dentro da planta. Silva et al.
 1500 (2011), observaram que à medida que se elevaram os teores de nitrogênio, a atividade
 1501 da enzima redutase do nitrato apresentou uma variação de 8,2 a 14,82 $\mu\text{moles NO}_2^-$
 1502 $\text{h}^{-1} \text{gmf}^{-1}$ da menor dose até a dose ótima (100 kg ha^{-1}), o que representa um aumento
 1503 na atividade enzimática em virtude dos incrementos de nitrogênio.

1504 Com relação a inoculação via pulverização foliar, Costa et al. (2015) afirmam
 1505 que a falta de resposta pode estar relacionada ao fato de que este tratamento
 1506 normalmente é aplicado apenas 20 dias após a semeadura e, portanto, neste ponto,
 1507 as plantas podem não ter tempo suficiente para expressar o efeito da inoculação.
 1508 Moraes et al. (2016) destacam ainda que concentrações elevadas de inoculante,
 1509 exercem um efeito inibitório devido ao desequilíbrio na população microbiana do solo,
 1510 removendo microrganismos que podem ter uma associação benéfica com a rizosfera
 1511 do milho.

1512 Na Tabela 5 está exposto o resumo da análise de variância (valores de F) para
 1513 população inicial e final, número de espiga por planta, diâmetro de sabugo, diâmetro
 1514 de espigas e comprimento de espiga. Na avaliação dos dados, observa-se que não
 1515 houve diferença significativa para as variáveis mencionadas anteriormente. Para
 1516 todas as variáveis analisadas na cultura do milho, Repke et al. (2013) não constataram
 1517 efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* via sementes. Reforçando que os
 1518 fatores que interferem nas respostas da inoculação ainda não estão totalmente
 1519 esclarecidos.

1520 **Tabela 5.** Resumo da análise de variância (Teste F) para as fontes de variação bloco
 1521 e tratamentos para as variáveis população inicial (PIN) e final (PFIN),
 1522 número de espiga por hectare (NESP), diâmetro de sabugo (DSAB),
 1523 diâmetro de espiga (DESP) e comprimento de espiga (CESP).

FV	PIN	PFIN	NESP	DSAB	DESP	CESP
	Plantas ha ⁻¹		un	mm		cm
Blocos	0,68 ^{ns}	0,57 ^{ns}	1,09 ^{ns}	1,18 ^{ns}	2,88 ^{ns}	2,87 ^{ns}
Tratamentos	0,66 ^{ns}	1,11 ^{ns}	1,36 ^{ns}	0,64 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,13 ^{ns}
Médias	65 045	54.937	54.783	28,69	49,41	14,94
CV%	8,87	5,77	7,27	2,94	2,41	4,2

1524 ** significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo a 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$).
 1525 ns não significativo ($p \geq 0,05$). CV: coeficiente de variação
 1526

1527 Analisando os componentes da produção número de fileiras de grãos, número
 1528 de grãos por fileira, comprimento de grãos, massa de mil grãos e produtividade do
 1529 milho segunda safra, observa-se que não houve diferença significativa para nenhuma
 1530 dessas variáveis (Tabela 6).

1531 **Tabela 6.** Resumo da análise de variância (Teste F) para as fontes de variação bloco
 1532 e tratamentos para as variáveis número de fileiras de grãos (NFGE),
 1533 número de grãos por fileira (NGF), comprimento de grãos (COMGR),
 1534 massa de mil grãos (M1000) e produtividade (PROD).
 1535

FV	NFGE	NGF	COMGR	M1000	PROD
	Um		mm	g	kg ha ⁻¹
Blocos	0,34 ^{ns}	5,25*	5,83**	18,91**	8,99**
Tratamentos	0,40 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,47 ^{ns}	2,46 ^{ns}	0,99 ^{ns}
Médias	17,57	30,20	10,27	216,16	6261
CV%	2,99	4,84	3,34	3,76	8,39

1536 ** significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$). * significativo a 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$).
 1537 ns não significativo ($p \geq 0,05$). CV: coeficiente de variação

1538

1539 A massa de mil grãos, importante componente no milho segunda safra, não foi
 1540 influenciada pelas formas de inoculação com *Azospirillum brasilense*, corroborando
 1541 com os resultados obtidos por Kappes et al. (2017) que estudando a aplicação foliar
 1542 com *Azospirillum brasilense*, não observaram efeito significativo na massa de grãos,
 1543 assim como para a massa de 1000 grãos, não foi constatado efeito das formas de
 1544 inoculação sobre a produtividade do milho segunda safra. Segundo Cruz et al. (2008)
 1545 os componentes da produção influenciam na massa das espigas e conseqüentemente

1546 na produtividade de grãos. Portanto, como não foi detectado efeitos das formas de
1547 inoculação nos componentes da produção, também não foi constatado efeito para a
1548 produtividade.

1549 Deve-se destacar que na presente pesquisa, as condições climáticas
1550 mostraram-se limitantes para o bom desenvolvimento com milho (Figura 1), uma vez
1551 que a precipitação durante o período em que a cultura permaneceu no campo ficou
1552 abaixo do exigido pela mesma, o que pode ter comprometido a relação associativa
1553 estabelecida entre a bactéria e as plantas de milho. Outro fator importante no
1554 estabelecimento das relações associativas entre bactérias e plantas hospedeiras, é
1555 mencionado por Miguel & Moreira (2001). Esses autores, trabalhando com fixação
1556 biológica, evidenciaram o comportamento diferenciado das estirpes em diferentes pH
1557 de cultivo, tendo todas as estirpes crescido melhor em pH 6,0, onde alcançaram os
1558 maiores números de unidades formadoras de colônias. Em pH 5,0, a estirpe INPA 03-
1559 11B apresentou um crescimento menor em relação a pH 6,0 e 6,9. Deve-se frisar, que
1560 o pH da área onde a presente pesquisa foi desenvolvida era igual a 5,1, o que
1561 provavelmente pode ter prejudicado o estabelecimento das bactérias no solo.

1562 Segundo Vargas & Suhet (1980) o tratamento de sementes com inseticidas e
1563 fungicidas também podem causar toxidez às bactérias causando danos irreversíveis.
1564 Essa toxidez diminui o número de células viáveis e compromete a relação associativa
1565 estabelecida entre a bactéria e a planta de milho.

1566 Os resultados mostram que apesar da praticidade da aplicação do inoculante
1567 via sulco de semeadura e via foliar, comparado com a inoculação nas sementes, nas
1568 condições edafoclimáticas em que a pesquisa foi conduzida, as formas de inoculação
1569 com *Azospirillum brasilense* não foram eficientes em incrementar os componentes da
1570 produção e a produtividade do milho segunda safra. Corroborando com resultados
1571 apresentados por Santini et al. (2018) os quais avaliaram a inoculação com
1572 *Azospirillum brasilense* nas sementes, solo e folha.

1573 **4.4 Conclusões**

1574 Os métodos de inoculação com *Azospirillum brasilense* no milho segunda safra,
1575 não proporcionam ganhos na produtividade de grãos.

1576 A inoculação no sulco de semeadura e duas aplicações foliares, proporcionam
1577 maior teor de proteína bruta nas folhas do milho.

1578 **4.5 Referências**

- 1579 ALIASGHARZAD, N.; HEYDARYAN, Z.; SARIKHANI, M. R. *Azospirillum* inoculation
1580 alters nitrate reductase activity and nitrogen uptake in wheat plant under water deficit
1581 conditions. **International Journal on Advanced Science Engineering Information**
1582 **Technology**, Padang, v. 4, n. 4, p. 94-98, 2014.
- 1583 AOAC - **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis.
1584 13.ed. Washington: AOAC, 1990. 1015 p.
- 1585 BHERING, L. L. Rbio: A tool for biometric and statistical analysis using the R platform.
1586 **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.17, n. 2, p. 187-190, 2017.
- 1587 BRACCINI, A. L.; MARIUCCI, G. E. G.; SUZUKAWA, A. K.; LIMA, L. H. S.; PICCININ,
1588 G. G. Co-inoculação e modos de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e
1589 *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na nodulação das plantas e
1590 rendimento da cultura da soja. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido
1591 Rondon, v. 15, n. 1, p. 27-35, 2016.
- 1592 BRASIL. **Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária**. Regras para análise de
1593 sementes. Brasília: MAPA, 1992. 365 p.
- 1594 CADORE, R.; COSTA NETTO, A. P.; REIS, E. F.; RAGAGNIN, V. A.; FREITAS, D. S.;
1595 LIMA, T. P.; ROSSATO, M.; D'ABADIA, A. C. A. Híbridos de milho inoculados com
1596 *Azospirillum brasilense* sob diferentes doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de**
1597 **Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 15, n. 3, p. 399-410, 2016.
- 1598 COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. S. F.; NAVES, D. C. F.; SANTOS, C. B.; ROCHA,
1599 A. F. S. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of
1600 second-harvest maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 304-
1601 311, 2015.
- 1602 CRUZ, S. C. S.; PEREIRA, F. R. S.; SANTOS, J. R.; ALBUQUERQUE, A. W.;
1603 PEREIRA, R. G. Adubação nitrogenada para o milho cultivado em sistema plantio
1604 direto, no Estado de Alagoas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e**
1605 **Ambiental**, Campina Grande, v. 12, n. 1, p. 62-68, 2008.

- 1606 FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. 2.ed. Guaíba:
1607 Agropecuária, 2004. 360 p.
- 1608 GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J. M. K.; ALVES,
1609 C. J.; NOGUEIRA, L. M.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTE, J. L.
1610 M. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with
1611 *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 40, n. 1,
1612 p. 1-18, 2016.
- 1613 HUNGRIA, M. CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with
1614 selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize
1615 and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Amsterdam, v. 331, n. 2, p. 413-425, 2010.
- 1616 INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. **Dados Históricos, 2018**. Disponível
1617 em:<<http://www.inmet.gov.br>> Acesso em: 03 de outubro de 2018.
- 1618 KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; BEM, E. A. D.; PORTUGAL, J.
1619 R.; VILELA, R. G. Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de
1620 nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.
1621 34, n. 2, p. 527-538, 2013.
- 1622 KAPPES, C.; ARF, O.; BEM, E. A. D.; PORTUGAL, J. R.; GONZAGA, A. R. Manejo
1623 do nitrogênio em cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto. **Revista**
1624 **Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 13, n. 2, p. 201-217, 2014.
- 1625 KAPPES, C.; SILVA, R. G.; FERREIRA, V. E. N. Aplicação foliar de *Azospirillum*
1626 *brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura no milho safrinha. **Scientia Agraria**
1627 **Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 16, n. 3, p. 366-373, 2017.
- 1628 MEGURO, N. E.; MAGALHÃES, A. C. Atividade da redutase de nitrato em cultivares
1629 de café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 1725-1731, 1982.
- 1630 MIGUEL, D. L.; MOREIRA, F. M. S. Influência do ph do meio de cultivo e da turfa no
1631 comportamento de estirpes de Bradyrhizobium. **Revista Brasileira de Ciência do**
1632 **Solo**, Viçosa, v. 25, n. 4, p. 873-883, 2001.

- 1633 MORAIS, T. P.; BRITO, C. H.; BRANDÃO, A. M.; REZENDE, W. S. Inoculation of
1634 maize with *Azospirillum brasilense* in the seed furrow. **Revista Ciência Agronômica**,
1635 Fortaleza, v. 47, n. 2, p. 290-298, 2016.
- 1636 MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias
1637 diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações.
1638 **Comunicata Scientiae**, Teresina, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.
- 1639 NOVAKOWISKI, J. H.; SANDINI, I. E.; FALBO, M. K.; MORAES, A.; NOVAKOWISKI,
1640 J. H.; CHENG, N. C. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de
1641 *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.
1642 32, n. 1, p. 1687-1698, 2011.
- 1643 NUNES, P. H. M. P.; AQUINO, L. A.; SANTOS, L. P. D.; XAVIER, F. O.; DEZORDI, L.
1644 R.; ASSUNÇÃO, N. S. Produtividade do trigo irrigado submetido à aplicação de
1645 nitrogênio e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência**
1646 **do Solo**, Viçosa, vol. 39, n. 1, p. 174-182, 2015.
- 1647 REPKE, R. A.; CRUZ, S. J. S.; SILVA, C. J.; FIGUEIREDO, P. G.; BICUDO, S. J.
1648 Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no
1649 desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete
1650 Lagoas, v. 12, n. 3, p. 214-226, 2013.
- 1651 ROESCH, L. F. W.; OLIVARES, F. L.; PASSAGLIA, L.P. M.; SELBACH, P. A.; SÁ, E.
1652 L. S de; CAMARGO, F. A. O. Characterization of diazotrophic bacteria associated with
1653 maize: effect of plant genotype, ontogeny and nitrogen-supply. **World Journal of**
1654 **Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v. 22, n. 9, p. 967-974, 2006.
- 1655 SANTINI, J. M. K.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; GALINDO, F. S.;
1656 COAGUILA, D. N.; BOLETA, E. H. M. Doses and forms of *Azospirillum brasilense*
1657 inoculation on maize crop. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**,
1658 Campina Grande, v. 22, n. 6, p. 373-377, 2018.
- 1659 SOUSA, D. M. G. de; LOBATO, E. **Calagem e adubação para culturas anuais e**
1660 **semiperenes**. In: (Ed.). Cerrado: correção do solo e adubação. Brasília: Embrapa
1661 Informação Tecnológica, 2. ed, Cap.12, p.283-315. 2004.

- 1662 STETS, M. I.; ALQUERES, S. M. C.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. D. O; SCHMID,
1663 M.; HARTMANN, A.; CRUZ, L. M. Quantification of *Azospirillum brasilense* FP2
1664 bacteria in wheat roots by strain-specific quantitative PCR. **Applied and**
1665 **Environmental Microbiology**, Washington, v.81, n. 19, p. 6700-6709, 2015.
- 1666 VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R. Efeitos da inoculação e deficiência hídrica no
1667 desenvolvimento da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 4, n. 1,
1668 p. 17-21, 1980.
- 1669 VASCONCELOS, A. C. P.; SIQUEIRA, T. P.; LANA, R. M. Q.; FARIA, M. V.; NUNES,
1670 A. A.; LANA, Â. M. Q. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and N fertilization
1671 of corn in the Cerrado biome. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n.5, p. 732-740, 2016.