

Emilly Roberto Reis

**UTILIZAÇÃO DE BACTÉRIAS FIXADORA DE NITROGÊNIO DO
GÊNERO *AZOSPIRILLUM* NA CULTURA DO MILHO (*Zea mays L.*)**

Ji-Paraná/RO

2020

Emilly Roberto Reis

**UTILIZAÇÃO DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO DO GÊNERO
AZOSPIRILLUM NA CULTURA DO MILHO (*Zea mays L.*)**

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro Universitário São
Lucas de Ji-Paraná, como requisito para
colação de grau acadêmico de Bacharelado
em Agronomia sob a orientação do professor
Dr. Cristiano Costenaro Ferreira.

Ji-Paraná/RO

2020



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Gerada automaticamente mediante informações fornecidas pelo(a) autor(a)

R375u Reis, Emily Roberto.

Utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero
Azospirillum na cultura do milho / Emily Roberto Reis. --
Ji-Paraná, RO, 2020.

14, p.

Orientador(a): Prof. Dr. Cristiano Costenaro Ferreira.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) -
Centro Universitário São Lucas

1. Processo de adubação. 2. Adubação Nitrogenada. 3. Bactérias
Diazotróficas. I. Ferreira, Cristiano Costenaro. II. Título.

CDU 633.15

Emilly Roberto Reis

**UTILIZAÇÃO DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO DO GÊNERO
AZOSPIRILLUM NA CULTURA DO MILHO (*Zea mays L.*)**

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro Universitário São
Lucas de Ji-Paraná, como requisito para
colação de grau acadêmico de Bacharelado
em Agronomia sob a orientação do professor
Dr. Cristiano Costenaro Ferreira.

Ji-Paraná, ____ de _____ de 2020.

Avaliação/Nota: _____

BANCA EXAMINADORA

Resultado: _____

Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná.

Dr. Cristiano Costenaro Ferreira

Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná.

Me. Celso Pereira de Oliveira

Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná.

Me. Alan Antônio Miotti

UTILIZAÇÃO DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO DO GÊNERO *AZOSPIRILLUM* NA CULTURA DO MILHO (*Zea mays* L.)

Emilly Roberto Reis¹, Cristiano Costenaro Ferreira²

RESUMO

O milho é uma cultura de importância global, sobretudo por apresentar alta diversidade de consumo. O nitrogênio é o nutriente mais requerido pela cultura e o que mais onera os custos de adubação. Sendo assim, devido à grande necessidade de utilização de insumos, principalmente a adubação nitrogenada tem-se buscado alternativas sustentáveis através do processo de fixação biológica de nitrogênio, realizada por bactérias diazotróficas, como as do gênero *Azospirillum*. Entretanto, o principal obstáculo a utilização do *Azospirillum* na cultura do milho tem sido a instabilidade dos resultados, que depende de inúmeros fatores devido ao fato de serem bactérias associadas livremente à planta se tornando muito sensíveis ao ambiente e suas variações. Por isso, as características do solo têm sido frequentemente associadas à ausência de resposta à inoculação. Portanto, esta revisão bibliográfica desenvolvida através de pesquisas encontradas em plataformas eletrônicas, objetivou analisar os principais fatores do solo que podem interferir na efetividade do *Azospirillum* na cultura do milho, sendo feita uma comparação dos resultados obtidos por diversos autores, quanto ao efeito positivo e nulo comparando o tipo de solo, textura, potencial hidrogeniônico (pH), teor de alumínio (Al), teor de matéria orgânica (M.O.), saturação por bases (V%), fósforo e potássio presentes no solo. Os resultados encontrados mostram que não foi verificada a correlação entre nenhum dos fatores do solo analisados quanto ao efeito positivo ou nulo do *Azospirillum*.

Palavras-Chave: Associação bacteriana, Biotecnologia, Nitrogênio atmosférico, Poaceae

¹ Emilly Roberto Reis, graduanda em Bacharel em Agronomia do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná, 2020. E-mail: emillyrreis@gmail.com

² Dr. Cristiano Costenaro Ferreira, Professor Orientador do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná, 2020. E-mail: cristiano.ferreira@saolucas.edu.br

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é considerado um cereal de importância global, sobretudo por apresentar uma alta diversidade de consumo, desde a alimentação animal, alimentação humana e produção de etanol. Atualmente, o Brasil ocupa o terceiro lugar no ranking mundial de produção e consumo de grãos de milho (CONAB, 2019), superado apenas pelo arroz e trigo (AWIKA, 2011).

Apesar do Brasil possuir relevante ocupação na produção do grão, a produtividade ainda é considerada muito baixa comparando-se aos principais produtores. Sendo os maiores produtores mundiais os Estados Unidos e China. Um dos principais fatores que contribuem para que não ocorra aumento da produtividade do milho no Brasil é o manejo inadequado da adubação (CRUZ et al., 2009).

O nitrogênio é considerado o nutriente mais requerido pela cultura e o que mais influência no desenvolvimento e produtividade (VORPAGEL, 2010). Além disso, a maioria dos solos brasileiros contêm um baixo teor de N disponível, fazendo com que o uso de adubos nitrogenados seja uma prática indispensável (DARTORA et al., 2013).

Sendo assim, o que geralmente se observa na produtividade de milho é dado em função da dose de fertilizante nitrogenado aplicado, sendo que quanto maior a dose, maiores são os ganhos em produtividade (FONSECA, 2014).

Segundo a Embrapa (1998), o nitrogênio, dentre os nutrientes aplicados, é o que mais onera os custos de adubação, podendo chegar até cerca de 40% do custo total de produção na cultura do milho.

A principal fonte de adubação nitrogenada utilizada na agricultura é a ureia, devido ao menor custo se comparada a outros fertilizantes nitrogenados. Porém, o gás amônia, formado a partir da hidrólise enzimática quando esta fonte é aplicada na superfície, pode ser perdido para a atmosfera por volatilização (DA ROS et al., 2005; TEIXEIRA FILHO et al., 2010).

Levando em consideração o alto custo econômico e ambiental relacionado ao uso de adubos nitrogenados juntamente com o aumento da demanda por alimento, existe um interesse crescente de novas práticas tecnológicas que visem a redução de seu uso. Diante disso, uma das alternativas é a utilização de bactérias diazotróficas fixadoras de nitrogênio, que além dos benefícios ambientais relacionados à redução do uso de fertilizantes, a associação entre essas bactérias e culturas de grande

interesse econômico, como o milho, podem proporcionar benefícios como aumento no desenvolvimento e na produtividade dessas culturas (BALDANI et al., 1997).

A fixação biológica de nitrogênio é feita pelas bactérias diazotróficas que possuem a capacidade de reduzir o nitrogênio atmosférico (N_2), que se encontra unido por uma tripla ligação, e convertê-lo a uma forma assimilável na presença de nitrogenase, catalisando a reação e fazendo com que este processo ocorra a níveis menores de energia (ALVES, 2007).

Dentre os diversos grupos de bactérias diazotróficas, o gênero *Azospirillum* tem se destacado na fixação biológica de nitrogênio na cultura do milho (VORPAGEL, 2010). Estas bactérias vivem em associação com a rizosfera de plantas, portanto são consideradas diazotróficas de vida livre (OKON; LABANDERA-GONZALEZ, 1994).

Há relatos na literatura, de que a inoculação com *Azospirillum* favorece maior desenvolvimento das raízes entre vários outros efeitos. Já foram constatados que o maior acréscimo das raízes promove incrementos na absorção de água e minerais, maior tolerância a estresses tais como salinidade e seca, originando uma planta com maior vigor e produtividade (BASHAN et al., 1997; DOBBELARE et al., 2001; BASHAN et al., 2004). Além de haver maior tolerância a patógenos, provavelmente pelo maior crescimento radicular e melhor nutrição das plantas (CORREA et al., 2008). Tal fato atribuído à produção, pelas bactérias, de substâncias promotoras de crescimento, entre elas auxinas, citocininas e giberelinas (BABALOLA, 2010).

Com isso, tem-se tornado relevante a utilização de bactérias do gênero *Azospirillum* em práticas agrícolas, como uma alternativa para elevar a produção de grão de vários cereais em até 30%, podendo ser ainda maior em condições controladas e também para diminuir o uso de fertilizantes químicos, essencialmente os nitrogenados (BASHAN et al., 1997).

Porém, o principal obstáculo a sua utilização na cultura do milho tem sido a instabilidade dos resultados de pesquisa, que podem variar conforme a cultivar, às condições edafoclimáticas entre outros fatores (BARTCHECHEN et al., 2010). Portanto, deve-se levar em consideração a possibilidade de haver interação da bactéria com cada genótipo da cultura, tipo de solo, clima e tratamento de sementes (HOLGUIN et al., 1999).

Todavia, a eficiência dos resultados, depende de inúmeros fatores, pois a bactéria torna-se muito sensível ao ambiente e suas variações, decorrente de estarem

associadas livremente à planta, seja na rizosfera ou no interior dos tecidos da planta (GYANESHWAR et al., 2002), e frequentemente as características do solo têm sido associadas à ausência de resposta à inoculação (DOBBELAERE et al., 2002).

Sendo assim, o objetivo da presente revisão é reunir informações relevantes sobre os fatores que podem afetar a sobrevivência e manutenção do *Azospirillum sp.* no solo interferindo na sua efetividade na cultura do milho (*Zea mays L.*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho realizou-se através de uma detalhada revisão bibliográfica, por meio de plataformas eletrônicas, como: Scielo, PubMed, Science Direct, Wiley Online Library e Springer. Utilizou-se palavras-chave específicas do assunto, determinadas durante a pesquisa, para as buscas de material nas plataformas, sendo estas: “*Azospirillum in maize*”, “*Maize production*”, “*Azospirillum*”, “*Bacterial inoculation*”, “*Plant bacteria interaction*”, “*Rhizosphere bacteria*”, “*Diazotrophic bacteria*”, “*Associative and endophytic diazotrophs*” (Tabela 1), os materiais selecionados, foram publicados entre 2000-2019, sendo que dentro do corpo destes materiais haviam citações mais antigas, (duas de 1992, duas de 1994, duas de 1997 e uma de 1998), as quais foram lidas e suas informações utilizadas no presente trabalho devido à relevância para tal, sendo em idioma nacional (português) e inglês.

Foram selecionados 113 arquivos no total, os quais tratavam sobre os assuntos relacionados às palavras-chave da busca realizada. De acordo com o material encontrado, foram selecionados artigos, teses, dissertações e livros.

Dentre os 113 arquivos selecionados, 73 foram descartados, utilizando-se 40 arquivos. Para o entendimento de cada artigo e livro selecionado, foram todos lidos e organizados por fichamento na ferramenta Word, onde colocou-se as principais informações em inglês, traduzindo-as para português, obtendo-se uma melhor compreensão sobre cada material. Para a exclusão, os critérios utilizados foram o não entendimento claro do assunto e o não enquadramento no tema específico desta revisão.

Com base no material selecionado, foi feita a comparação dos principais fatores do solo que podem afetar a sobrevivência e manutenção do *Azospirillum* a partir de sua inoculação na cultura do milho (*Zea mays L.*). Dentre os fatores analisados está o tipo de solo, textura, potencial hidrogeniônico (pH), teor de alumínio

(Al), teor de matéria orgânica (M.O.), saturação por bases (V%), fósforo e potássio presentes no solo.

Tabela 1: Quantidade de trabalhos encontrados em plataformas on-line.

TERMOS	SCIELO	PUBMED	SCIENCE DIRECT	WILEY ONLINE LIBRARY	SPRINGER
Azospirillum in maize	46	70	638	397	266.123
Azospirillum	237	850	2.225	1.297	46
Bacterial inoculation	318	29.648	120.969	81.249	2.995
Plant bacteria interaction	103	27.950	100.999	763	25.082
Rhizosphere bacteria	183	6.374	12.352	8.043	2.896
Diazotrophic bacteria	176	1.278	1.244	1.097	2.766
Biological nitrogen fixation	364	4.210	32.918	34.799	15.877

Legenda: SciELO = Scientific Electronic Library Online; PubMed = National Library of Medicine; Science Direct = E-Books Backlist e livros em Português - ELSEVIER; Wiley Online Library = Scientific research articles; Springer = International Publisher Science.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados descritos na literatura em relação aos efeitos do *Azospirillum* sp. no desempenho agrônômico do milho são bastante variados e a inconsistência em trabalhos de inoculação com *Azospirillum* é comum.

Em geral, vários fatores podem influenciar o sucesso da colonização bacteriana, entre eles as variações no ambiente, solo ou substrato, nas plantas e nos componentes da microflora são apontados como responsáveis pela variação de respostas à inoculação entre diversos experimentos (DOBBELAERE et al., 2001).

Com isso, temos fatores bióticos e abióticos considerados responsáveis por afetar a inoculação da bactéria. Os principais fatores são os considerados abióticos, e dentre estes fatores tem-se: a acidez do solo, toxidez do alumínio, tipo de solo (textura e composição), salinidade, baixa fertilidade do solo, disponibilidade de N mineral que podem afetar diretamente na sobrevivência das bactérias (SILVA, 2002; TAIZ e ZIEGER, 2004).

3.1 pH

A maioria dos solos tropicais são constituídos de solos originários de formações geológicas muito antigas. Os Latossolos e Argissolos predominam os solos

brasileiros, sendo considerados solos bem desenvolvidos, bastante profundos, com baixa fertilidade natural e geralmente ácidos (FERNANDES JÚNIOR et al., 2014).

A acidez do solo, ocasionada pela concentração do íon H^+ , regularmente está associada a outros fatores, como saturação e toxidez por Al e Mn, baixa CTC e disponibilidade de nutrientes, diminuindo sua absorção pelas plantas. Além disso, a acidez é geralmente o componente que mais afeta a fixação biológica de nitrogênio (CARDOSO et al., 1992).

No momento da semeadura, condições ambientais desfavoráveis no solo como pH baixo afetam diretamente a capacidade de multiplicação e a sobrevivência das bactérias fixadoras de nitrogênio (KLEINSCHMITT, 2016).

De um modo geral, as bactérias fixadoras de nitrogênio apresentam melhores taxas de crescimento e fixação de nitrogênio em uma faixa de pH entre 6,0 e 7,0, sendo que poucas crescem bem em pH abaixo de 5,0 (GRAHAM et al., 1994).

As espécies de *Azospirillum* apresentam semelhança em relação à tolerância à acidez dos solos, exceto a *A. amazonense*, que parece tolerar uma variação maior. De modo específico, estirpes de *A. brasiliense* apresentam melhores taxas de crescimento e fixação de nitrogênio em pH 6,0 a 8,0. Sendo considerado o pH 7,0 como ótimo para o desenvolvimento bacteriano e FBN (SKONIESKI, 2015).

No entanto, embora algumas características bióticas e abióticas sejam consideradas como ideais para a atuação do *Azospirillum*, verificou-se que algumas pesquisas apresentaram resultado positivo em condições não ideais. Na Tabela 2, são apresentadas as características do solo de alguns trabalhos que apresentaram resposta positiva e nula sobre a efetividade do uso do *Azospirillum* na cultura do milho.

Pode-se verificar, por exemplo, que efeitos positivos foram encontrados nos trabalhos de Mumbach et al. (2017), Braccini et al. (2012), Pereira et al. (2012) e Moreira et al. (2019), nos quais o pH do solo variou de 5,5 a 5,2, estando fora da faixa considerada ideal para o crescimento e fixação de N. Por outro lado, Tagliari (2014) e Melo (2014), não observaram incremento na produção com a inoculação, mesmo em solo com pH 6,6 e 6,3, respectivamente.

A ação do pH do solo sobre as bactérias depende de sua tolerância a esse fator. A maioria das bactérias fixadoras de nitrogênio, livres ou associadas às raízes

das plantas, é pouco tolerante à acidez. Entretanto existem estirpes adaptadas que toleram pH mais baixos (RUFINI, 2010).

Dessa forma, a não correlação entre a efetividade do *Azospirillum* com o pH do solo, pode ser devido à tolerância e/ou adaptação da estirpe utilizada no inoculante.

Tabela 2.Comparação de resultados entre diferentes autores.

Análises	(Positivos)					RESULTADOS					(Nulos)	
	MUMBACH et al., 2017	BRACCINI et al., 2012	CAVALLI ET et al., 2000	PEREIRA et al., 2012	MOREIRA et al., 2019	TAGLIARI I, 2014	CUNHA et al., 2014	MELO, 2014	MASCARELLO et al., 2015	REPKE et al., 2013		
Estado	Rio Grande do Sul	Paraná	Paraná	Goiás	Mato Grosso	Santa Catarina	Goiás	Santa Catarina	Paraná	São Paulo		
Tipo de solo	LVdf	PVd	LVef	LVAd	LVd	CXb	LVdf	CXb	LVef	LVdf		
Textura	Argiloso	-	-	-	Argiloso	Argiloso	Arenoso	Argiloso	Argiloso	Argiloso		
pH	5,2	5,2	6,6	5,5	5,4	6,6	5,5	6,3	5,3	5,1		
Teor de Al (cmol/dm³)	0,1	0,00	0,00	0,6	0,00	-	0,00	0,00	0,00	2		
Teor de M.O (%)	3	-	-	3,9	3,1	5,36	4,10	0,28	-	4,3		
V%	76,9	55,35	-	40	-	-	44,05	79,8	66	70		
Fosforo (mg/dm³)	18,9	4,7	51,80	2,2	8,80	7,7	29,14	10,7	12,90	-		
Potássio (cmol/dm³)	0,98	0,27	0,44	0,18	0,13	0,23	0,94	0,1	0,18	0,01		

LVdf = Latossolo Vermelho distrófico típico; PVd = Argissolo Vermelho distrófico; LVef = Latossolo Vermelho Eutrófico; LVAd = Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico típico; LVd = Latossolo Vermelho distrófico típico; CXb = Cambissolo Háplico; (-) = não há informação; pH = Potencial hidrogeniônico; Al = Alumínio; M.O. = Matéria Orgânica; V% = Saturação por base.

3.2 Alumínio

Em solos ácidos, geralmente que se encontram com pH abaixo de 5,0, a elevada concentração de alumínio (Al) é um dos principais fatores que causam problemas de toxicidade. Concentrações altas de alumínio diminuem a eficiência da fixação de nitrogênio atmosférico, podendo afetar a sobrevivência das bactérias livres ou até mesmo interferir em vários estágios do processo de fixação (GOMES et al., 2002). No entanto, também não foi observada correlação entre o teor de Alumínio com os resultados dos trabalhos, visto que Mumbach et al. (2017) e Pereira et al. (2012) relataram teores de 0,1 e 0,6 cmol/dm³, respectivamente e obtiveram resposta positiva, enquanto que Cunha et al. (2014), Melo (2014) e Mascarello et al. (2015), mesmo com teor de zero cmol/dm³ de Al no solo, não obtiveram.

3.3 Matéria Orgânica

Em relação à matéria orgânica no solo, pode haver interferência na capacidade da bactéria para beneficiar a planta, pois o *Azospirillum* pode ser adsorvido a ela e, assim ficar menos disponível para colonizar o sistema radicular. Além disso, a matéria orgânica aumenta a proliferação de outras bactérias presentes no solo, o que por sua vez pode afetar a capacidade competitiva com o *Azospirillum* (DOBBELAERE et al., 2002). Apesar disso, comparando os resultados da Tabela 2, não houve correlação entre o teor de matéria orgânica com os resultados obtidos, visto que Melo (2014) relatou teor de 0,28% (considerado baixo) e não obteve resultado positivo com a inoculação.

3.4 Fósforo

Não foram encontrados trabalhos descritos na literatura indicando a interferência do fósforo sobre o *Azospirillum* em gramíneas, nem foi detectada uma possível relação entre este elemento e os diferentes resultados das pesquisas. Porém, no cultivo de leguminosas como o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é relatado que sua deficiência, comum na maioria dos solos tropicais, tem um efeito significativo sobre a atividade da nitrogenase, subsequentemente limitando a nodulação e a fixação simbiótica do nitrogênio (FERREIRA et al., 2003).

3.5 Tipo de solo, textura, saturação por bases e potássio

Não foram encontrados registros na literatura sobre possíveis interferências desses parâmetros na FBN e também não foi identificada nenhuma possível correlação do tipo de solo, textura, saturação por bases e potássio na efetividade da ação do *Azospirillum* na cultura do milho.

4. CONCLUSÃO

Ao final da pesquisa, conclui-se que embora existam fatores bióticos e abióticos que influenciam a eficácia de inoculantes à base de *Azospirillum* na cultura do milho, os resultados encontrados mostram que não foi verificada a correlação entre o tipo de solo, textura, pH, teor de alumínio, teor de matéria orgânica, saturação por base, fósforo e potássio para o efeito positivo ou nulo do *Azospirillum*.

Sendo assim, são necessários mais estudos a fim de elucidar a variabilidade existente na resposta do *Azospirillum* na cultura do milho, compreendendo melhor os fatores que implicam o processo de FBN, visando a melhoria na produtividade com redução dos custos e impactos ambientais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, G. C. **Efeito da inoculação de bactérias Diazotróficas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia* em genótipos de milho.** 2007. 65 p. Dissertação de mestrado (Agronomia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2007.

AWIKA, J. M. Major Cereal Grains Production and use Around the World. In: AWIKA, J.M.; PIRONEN, V.; BEAN, S. (eds). **Advances in Cereal Science: Implications to Food Processing and Health Promotion. ACS Symposium Series**, American Chemical Society: Washington, DC, 2011.

BABALOLA, Olubukola Oluranti. Beneficial bacteria of agricultural importance. **Biotechnol Lett**, v.32, n.11, p.1559-1570, 2010.

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

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

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* – plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, p.103-121, 1997.

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

BRACCINI, A. L.; DAN, L. G. M.; PICCININ, G. G.; ALBRECHT, L. P.; BARBOSA, M. C.; ORTIZ, A. H. T. Inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*, associada ao uso de biorreguladores em milho. **Revista Caatinga**, v.25, n.2, p.58-64, 2012.

CARDOSO, E. J. B. N. et al. **Microbiologia do solo.** Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do solo, p.360, 1992.

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

CONAB. **Perspectivas para a agropecuária**. Companhia Nacional de Abastecimento, Brasília, v.7, p.1-100, out. 2019.

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

CRUZ, J. C.; FILHO, I. A. P.; GARCIA, J. C.; GOMES, P. H. A.; FERNANDES, J. S. C.; ALBERNAZ, W. M. **Avaliação de Sistemas de produção de Milho na região de Sete Lagoas, MG**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular Técnica, 123. Sete Lagoas, 2009.

CUNHA, F. N. et al. Efeito da *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no Sudeste Goiano. Goiás: **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.13, n.3, p.261-272, 2014.

DA ROS, Clovis Orlando; AITA, Celso; GIACOMINI, Sandro José. Volatilização de amônia com aplicação de ureia na superfície do solo, no sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v.35, n.4, p.799-805, 2005.

DARTORA, J.; et al. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum* brasilense e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.10, p.1023-1029, Campina Grande, 2013.

DOBBELAERE, S.; et al. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.28, p.871-879, 2001.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGHS, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum* brasilense and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, v.36, p.284-297, 2002.

EMBRAPA – AGROBIOLOGIA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Seleção de Genótipos de Milho e Arroz mais Eficientes Quanto ao Ganho de N Através de Fixação Biológica de N₂**. Embrapa/Rio de Janeiro. Brasília: Embrapa, Seropédica-RJ, Documentos 07, p. 23, Novembro/1998.

FERREIRA, C. M. et al. **Sistemas de Produção 2**. Embrapa Arroz e Feijão, Versão eletrônica, Jan/2003.

FERNANDES JÚNIOR, P. I. et al. Algumas Limitações à Fixação Biológica de Nitrogênio em Leguminosas. Seropédica-RJ: **Embrapa Agrobiologia**, p.33, 2008.

FONSECA, L. M. F. **Inoculação com Estirpes de *Azospirillum* e Adubação Nitrogenada no Acúmulo de Nutrientes e Produtividade de Milho**. Dissertação (Ciências Agrárias) - Universidade Federal de São João Del Rei - UFSJ, Sete Lagoas, 2014.

FONSECA, L. M. F. **Inoculação com Estirpes de *Azospirillum* e Adubação Nitrogenada no Acúmulo de Nutrientes e Produtividade de Milho**. Dissertação (Ciências Agrárias) - Universidade Federal de São João Del Rei - UFSJ, Sete Lagoas, 2014.

GOMES, F. T.; BORGES, A. C.; NEVES, J. C. L.; FONTES, P. C. R. Nodulação, fixação de nitrogênio e produção de matéria seca de alfafa em resposta a doses de calcário, com diferentes relações cálcio: magnésio. **Revista Ciência Rural, Santa Maria**, v. 32, n. 2, p. 925-930, 2002.

GRAHAM, P. H. et al. Acid pH tolerance in strains of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and initial studies on the basis for acid tolerance of *Rhizobium tropici* UMR 1899. **Canadian Journal Microbiology**, Ottawa, v.40, n.3, p.198-207, 1994.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G. N.; PAREKH, L. J.; POOLE, P. S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil**, v.245, p.83-93, 2002.

HOLGUIN, G.; PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Genetics and molecular biology of *Azospirillum*. **Biol Fertil Soil**, v.331, n.1-2, p.413-425, 2010.

KLEINSCHMITT, Ezequiel. **Produtividade da Cultura do Milho (*Zea mays*) em Resposta à Inoculação de *Azospirillum brasilense* em Combinação com Fertilizantes Bioindutores**. Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC. Curitibanos, 2016.

MASCARELLO, G. et al. Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. **Revista Cultivando o Saber**, p.46-55, 2015.

MELO, H. F. **Adubação nitrogenada e inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho**. (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Catarina Campus Curitibanos, SC, 2014.

MOREIRA, R. C. et al. Desempenho agrônômico do milho em função da inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada. **Revista de Ciências Agrárias**, 2019.

MUMBACH, G. L.; KOTOWSKI, I. E.; SCHNEIDER, F. J. A.; MALLMANN, M. S.; BONFADA, E. B.; PORTELA, V. O.; BONFADA, E. B.; KAISER, D. R. Resposta da inoculação com *Azospirillum brasilense* nas culturas de trigo e de milho safrinha. Curitiba: **Revista Scientia Agraria**, v.18, n.2, p.97-103, 2017.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1591-1601, 1994.

PEREIRA, L. C.; TOZONI, M. L. Inoculação de Estirpes de *Azospirillum brasilense* Associado à Fertilização Nitrogenada na Cultura do Milho. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, n.31, 2017.

REPKE, R. A. et al. Eficiência da *Azospirillum brasilense* Combinada com Doses de Nitrogênio no Desenvolvimento de Plantas de Milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.12, n.3, p. 214-226, 2013.

RUFINI, Márcia. **Eficiência da Simbiose de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio com Feijoeiro Comum em Diferentes Condições de pH**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras – UFLA, MG, 2010.

SILVA, A. F.; FREITAS, A. D.; STAMFORD, N. P. Efeito da inoculação da soja (Cultivar Tropical) com rizóbios de crescimento rápido e lento em solo ácido submetido à calagem. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 5, p.1327-1333, 2002.

SKONIESKI, Fernando Reimann. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* e Doses de Nitrogênio em Milho Para Produção de Silagem e Grãos**. 2015. Tese de Doutorado (Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, RS, 2015.

TAGLIARI, L. P. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada na cultura do milho cultivado sobre palhada de aveia e nabo**. (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Catarina Campus Curitibano, SC, 2014.

TAÍZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. SANTARÉM, E.R. et al., 3º ed., Porto Alegre: Artemed, p. 719, 2004.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; BENETT, C. G. S. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em trigo irrigado em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.8, p.797-804, 2010.

VORPAGEL, A. G. **Inoculação de Azospirillum isolado e associado a bioestimulante em milho no Noroeste do RS.** 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUÍ, RS, 2010.