

Rizobactérias em pós-emergência e adubação nitrogenada de cobertura no desempenho agrônômico do milho

Moryb Jorge Lima da Costa Sapucay, André Sampaio Ferreira, André Luiz Martinez de Oliveira, Claudemir Zucareli

Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445, km 380, Caixa Postal 10011, *Campus* Universitário, CEP: 86057-970, Londrina, PR, Brasil. E-mails: moryb_sapucay@hotmail.com, andresampaioferreira@gmail.com, almoliva@uel.br, claudemircca@uel.br

Resumo: Rizobactérias promotoras de crescimento em pós-emergência podem aumentar a eficiência de uso do fertilizante químico e a produtividade do milho. Objetivou-se avaliar o desempenho agrônômico do milho em função da aplicação em pós-emergência de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* sp. e doses de nitrogênio em cobertura. O experimento foi conduzido na safra de verão sob delineamento experimental em blocos casualizados em esquema fatorial 3 x 3, com seis repetições. Os tratamentos foram constituídos da aplicação de inoculantes em pós-emergência no milho (AG 2040) (controle sem aplicação; aplicação de *Azospirillum brasiliense*; e aplicação de *Azospirillum brasiliense* e *Bacillus* sp.) e doses de nitrogênio em cobertura (0, 60, 120 kg ha⁻¹). Avaliou-se: índice de clorofila foliar, teor de nitrogênio, área foliar, diâmetro do colmo, altura de inserção da espiga, altura da planta, comprimento da espiga, número de fileiras por espiga, número de grãos por espiga, massa de cem grãos e produtividade. A aplicação de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* sp., bem como a adubação nitrogenada de cobertura com 120 kg ha⁻¹ elevam teor de clorofila no milho. A aplicação conjunta das bactérias aumenta ainda o diâmetro do colmo da cultura. A *Azospirillum brasilense* associada a aplicação de 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura incrementa o número de fileiras de grãos por espiga. A aplicação de *Azospirillum brasilense* e/ou *Bacillus* sp. em pós-emergência no milho associada com a adubação nitrogenada de cobertura não promove aumento no desempenho produtivo da cultura.

Palavras chave: *Zea mays* L., Microrganismos, Fertilizante químico.

Post-emergence rhizobacteria and topdressing nitrogen fertilization in the agronomic performance of corn

Abstract: The use of post-emergence with plant growth-promoting bacteria can increase the efficiency of chemical fertilizer use and grain yield. The objective of this study was to evaluate the agronomic performance of corn as a function of the post-emergence application of *Azospirillum brasilense* and *Bacillus* sp. and topdressing nitrogen rates. The experiment was conducted in the summer crop under a randomized complete block design in factorial 3 x 3, with six replications. The treatments consisted of the application of inoculants in post-emergence in corn (control without application; application of *Azospirillum brasiliense*; and application of *Azospirillum brasiliense* and *Bacillus* sp.) and topdressing nitrogen rates (0, 60, 120 kg ha⁻¹). Leaf chlorophyll index, nitrogen content, leaf area, stem diameter, ear insertion height, plant height, ear length, number of rows per ear, number of grains per ear, mass of one hundred grains and grain yield were evaluated. Post-emergence application of *Azospirillum brasilense* and *Bacillus* sp., as well as topdressing nitrogen fertilization of 120 kg ha⁻¹ increased chlorophyll content in corn. The joint application of the bacteria further increases the stem diameter of the culture. The application of *Azospirillum brasilense* associated with the application of 60 kg ha⁻¹ of topdressing nitrogen increased the number of rows of grains per ear. Post-emergence application of *Azospirillum brasilense* and/or *Bacillus* sp. associated with topdressing nitrogen fertilization did not promote the productive performance of the crop.

Key words: *Zea mays* L., Microorganisms, Chemical fertilizer.

Introdução

O nitrogênio é o nutriente absorvido em maior quantidade na cultura do milho (*Zea mays* L.), uma vez que é essencial para processos fisiológicos da planta, como fotossíntese, respiração, crescimento e diferenciação celular, e faz parte da constituição dos aminoácidos, que formam as proteínas (Galvão et al., 2015).

Devido ao alto custo dos fertilizantes e o impacto ambiental, práticas alternativas têm sido pesquisadas com o objetivo de reduzir a quantidade do nitrogênio aplicado e aumentar sua eficiência de uso, dentre as quais destaca-se a inoculação com bactérias diazotróficas, fixadoras de nitrogênio ou bactérias promotoras de crescimento das plantas (Kappes et al., 2013 & Spolaor et al., 2016). Esses microrganismos podem estimular o crescimento e desenvolvimento das plantas devido à mecanismos relacionados ao aumento da capacidade de fixação biológica do nitrogênio, a produção de fitormônios, a solubilização do fosfato e a ação de controle de patógenos (Souza et al., 2015 & Ojuederie et al., 2019).

A inoculação de bactérias via semente é a forma mais pesquisada e utilizada no Brasil, entretanto estudos apresentam resultados contrastantes quanto ao uso da inoculação de microrganismos fixadores ou promotores do crescimento via semente combinado com adubação nitrogenada em cobertura sobre o desempenho agrônômico do milho (Dartora et al., 2013, Repke et al., 2013, Mazzuchelli et al., 2014, Libório et al., 2016 & Spolaor et al., 2016).

O processo de inoculação das sementes de milho coloca as bactérias em contato com os produtos químicos presentes nas sementes comerciais, que são posteriormente semeadas próximo aos fertilizantes utilizados na adubação de semeadura (Oliveira et al., 2017). Por isso, o uso do inoculante em pós-emergência pode ser uma opção promissora para a incompatibilidade das bactérias com os produtos químicos comumente utilizados no tratamento de sementes (Kappes et al., 2017).

Contudo, essa é uma técnica pouco estudada, fato que justifica a realização de

trabalhos para verificação de sua eficácia. A hipótese do trabalho é: o uso de inoculantes em pós-emergência associados a adubação nitrogenada em cobertura podem favorecer o desempenho produtivo do milho.

Neste contexto, objetivou-se avaliar o desempenho agrônômico do milho em função da aplicação em pós-emergência de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus sp.* e doses de nitrogênio em cobertura.

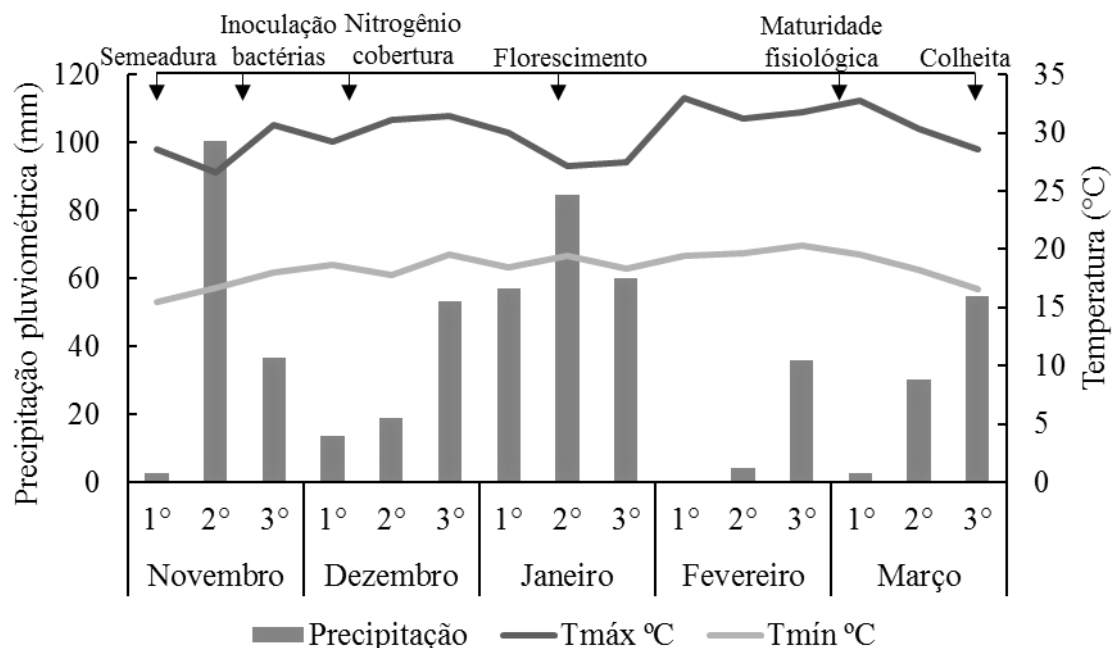
Material e métodos

O experimento foi conduzido na safra de verão em Londrina-PR (560 m de altitude e 23°23' S e 51°11' O), em Latossolo Vermelho distroférrico (Santos et al., 2018). O clima local, segundo a classificação de Köppen, é Cfa (clima subtropical), subtropical úmido mesotérmico, com verões quentes e geadas pouco frequentes (Alvares et al., 2013). Os dados de temperatura e precipitação pluvial no período de condução do experimento são apresentados na Figura 1.

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados em esquema fatorial 3 x 3 (uso de inoculantes x doses de nitrogênio), com seis repetições. Os tratamentos foram constituídos de aplicações de inoculantes em pós emergência da cultura (controle sem aplicação; aplicação de *Azospirillum brasilense*; e aplicação de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus sp.*) e doses de nitrogênio em cobertura (0, 60, 120 kg ha⁻¹). A parcela experimental tinha quatro linhas com cinco metros de comprimento, espaçadas de 0,5 m entre si e 1,5 m entre blocos, sendo a área útil as duas linhas centrais, totalizando 5 m².

Antes da instalação do experimento foi realizada análise química do solo de 0-20 cm de profundidade, cujo resultado foi: 5,2 pH (CaCl₂); 9,0 mg dm⁻³ P (Melich⁻¹); 14,2 g kg⁻¹ MO; 0,0 cmolc dm⁻³ Al; 3,37 cmolc dm⁻³ H+Al; 0,3 cmolc dm⁻³ K; 4,2 cmolc dm⁻³ Ca; 1,0 cmolc dm⁻³ Mg; 5,5 cmolc dm⁻³ SB; 9 cmolc dm⁻³ CTC; e 62% V. De acordo com análise química de solo e necessidade da cultura, na semeadura foram aplicados 300 kg ha⁻¹ do formulado 04-14-08.

Figura 1 - Gráfico da temperatura máxima (Tmáx. °C), temperatura mínima (Tmín. °C) e precipitação pluvial (mm), por decêndio, durante o experimento, Londrina-PR. Precipitação pluvial acumulada durante o ciclo da cultura: 556 mm.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Utilizou-se o milho híbrido (cv. AG 2040) com densidade de semeadura de 65 mil sementes viáveis ha⁻¹. Antes da semeadura, as sementes foram tratadas com fungicida fludioxonil (3,75 g i.a.) + metalaxyl-m (1,5 g i.a.) por 100 kg de semente, e com o inseticida imidacloprido (52,5 g i.a.) + tiodicarbe (157,5 g i.a.) para 60.000 sementes.

Os inocúlos foram preparados a partir de colônias isoladas de *Azospirillum brasilense* da estirpe AbV5 e *Bacillus* sp. da estirpe RA, disponíveis no Laboratório de Bioquímica Molecular da Universidade Estadual de Londrina (LBM-UDEL). Por um período de 24 horas, estas colônias foram crescidas em meio líquido de Dygs (Rodrigues et al., 1986), incubadas por um período de 48h em um agitador rotativo (180 rpm) a 28 ± 2 °C por 24h. Posteriormente, foram multiplicadas em 250 mL de meio de cultura líquido Form15 (Oliveira et al., 2017) em frascos de Erlenmeyer em uma população inicial de 1 × 10⁴ células por ml, incubados sob agitação orbital (180 rpm) a 28 ± 2 °C por 24 h. Após o período de crescimento, as culturas foram normalizadas por diluição da suspensão de células bacterianas no meio de cultura Form15 até uma concentração final de 1 × 10⁷ células por ml, constituindo os inoculantes

utilizados nos ensaios.

Os inoculantes de cada tratamento foram diluídos na proporção de 100 mL de inoculante líquido para cada 10 L de água. A aplicação foi feita próximo ao colo da planta, utilizando 10 litros de solução para cada parcela. A aplicação das bactérias foi realizada 13 dias após a emergência quando as plantas se encontravam no estágio V2 (duas folhas completamente expandidas), usando pulverizador costal com ponta de jato cone vazio.

A adubação nitrogenada de cobertura foi realizada quando as plantas estavam no estágio V5 (cinco folhas completamente expandidas), tendo como fonte ureia (45% N). O controle de pragas e plantas daninhas foi realizado conforme as recomendações técnicas para a cultura.

No estágio Vt (pendoamento), nas linhas centrais da parcela, realizou-se as seguintes avaliações: a) índice de clorofila foliar – obtido por clorofilômetro ClorofilLOG (modelo CFL 1030 Falker®) em 10 plantas ao acaso por parcela, medindo-se o terço médio da lâmina foliar nas folhas abaixo e oposta a espiga de cada planta; b) teor de nitrogênio foliar total - as folhas submetidas ao clorofilômetro foram coletadas, acondicionadas em sacos de papel e levadas para laboratório, onde foram lavadas com água destilada e secas

em estufa de ventilação forçada a 60 °C até atingir massa constante. Em seguida, foram moídas e homogeneizadas para uso na determinação do nitrogênio foliar pelo método descrito por Tedesco et al. (1995); c) área foliar - medição das folhas acima da espiga de sete plantas selecionadas ao acaso, medindo-se o comprimento, do final da bainha até a ponta, e largura do terço médio da folha para posterior determinação da área foliar da planta segundo a fórmula $AF = C \cdot L \cdot 0,75$, em que C representa o comprimento, e L a largura da folha (Sangoi et al. 2011); d) diâmetro do colmo - medido acima do primeiro nó com auxílio de paquímetro; e) a altura de inserção da primeira espiga - medida do solo até a base da espiga no colmo da planta; f) altura da planta - do colo da planta até a inserção do pendão na planta.

Realizou-se colheita manual quando o milho atingiu a maturidade de colheita (22% de umidade). Após a colheita foram separadas aleatoriamente 10 espigas de cada parcela experimental para avaliação dos componentes de produção: a) comprimento de espiga – média da medida da base até o último grão no ápice das espigas com auxílio de uma fita métrica; b) número de fileiras por espiga – média da contagem das fileiras de grãos de cada espiga; c) número de grãos por fileira – média da contagem de uma fileira de grãos de cada espiga; d) peso de 100 grãos – média da contagem manual e pesagem direta em balança analítica de 8 repetições de cem grãos após correção da umidade para 13% em estufa (Silva et al., 2014).

A produtividade foi obtida depois da colheita da área útil de cada tratamento, trilha, determinação da massa de grãos corrigida para 13% de umidade e expressa em kg ha⁻¹.

Após verificar o atendimento das pressuposições da análise de variância, os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey, utilizando o programa de análise estatística SISVAR (Ferreira, 2014).

Resultados e discussão

A aplicação de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* sp. em pós-emergência no milho (V2) aumentou significativamente o teor de clorofila foliar (6%), em comparação com controle (sem aplicação) (Tabela 1). O nitrogênio é componente fundamental na biossíntese das moléculas de

clorofilas, de forma que a quantificação da clorofila fornece uma ideia sobre o aparato fotossintético e a capacidade da cultura quanto a absorção de luz e transferência de energia durante o processo de fotossíntese (Bassi et al., 2018). Esse aumento no teor de clorofila observado nas folhas de milho pode ser resultado da ação das bactérias tanto no processo de fixação biológica do nitrogênio, quanto nos mecanismos de promoção do crescimento das plantas, ambos contribuindo para maior eficiência de uso do nitrogênio pelo cereal (Repke et al., 2013).

A adubação nitrogenada de 120 kg ha⁻¹ em cobertura também elevou o teor de clorofila foliar em 6%, em relação aos tratamentos 0 e 60 kg ha⁻¹ de N (Tabela 1). Apesar de apresentar variação conforme estágio de desenvolvimento das plantas e nível de manejo, o teor de clorofila na folha está associado à produtividade de grãos, podendo ser utilizado eficientemente para monitorar os índices nutricionais de nitrogênio em milho e estimar a necessidade de adubação nitrogenada na cultura (Rambo et al., 2011). Segundo Argenta et al. (2003), no espigamento e independentemente do híbrido usado, o índice de clorofila adequado é 58 quando se almeja elevado potencial de rendimento de grãos, valor que está acima dos mais altos obtidos neste experimento, 56,82 e 57,37 (Tabela 1). Contudo, estes valores são maiores que os apresentados por Felisberto et al. (2015), 45,4 a 52,9, usando mesmo clorofilômetro para avaliar resposta de híbridos de milho à suplementação da adubação nitrogenada em cobertura em estádios de desenvolvimento da cultura, mas ambos resultados não refletiram em incrementos na produtividade de grãos.

A aplicação de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* sp. aumentou o diâmetro do colmo (10%) em comparação com o uso isolado de *A. brasilense* (Tabela 1). Dartora et al. (2013), avaliando o desenvolvimento e a produtividade do milho em resposta à aplicação de *A. brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* associada à adubação nitrogenada, verificaram que a combinação das bactérias promoveu incremento de 15% no diâmetro do colmo em relação à testemunha na fase vegetativa (V8) e de 8% em comparação a aplicação isolada de *A. brasilense* na fase reprodutiva (R3), resultado, segundo os autores, possivelmente decorrente da promoção do crescimento favorecida pelas bactérias diazotróficas.

Tabela 1 - Efeitos da aplicação de inoculantes em pós-emergência e doses de nitrogênio em cobertura no milho sobre índice de clorofila foliar (ICF), teor de nitrogênio foliar (N), área foliar (AF), diâmetro do colmo (DC), altura de inserção da espiga (AIE) e altura da planta (AP), comprimento da espiga (CE), número de fileiras por espiga (NFE), número de grãos por fileira (NGF), massa de cem grãos (M100) e produtividade de grãos (PDTE), em Londrina-PR.

Tratamento	ICF	N (%)	AF (cm ² /planta)	DC (mm)	AIE (cm)	AP (cm)
Inoculante						
Controle	53,38 b	23,70	416,19	19,65 ab	104,69	211,25
<i>A. brasilense</i>	55,59 ab	24,00	402,73	18,62 b	101,86	208,25
<i>A. brasilense</i> + <i>Bacillus</i> sp.	56,82 a	25,00	438,46	20,53 a	104,88	210,47
Nitrogênio (kg ha ⁻¹)						
0	54,10 b	23,20	420,10	19,57	104,13	211,58
60	54,33 b	24,50	417,83	19,92	103,36	208,75
120	57,36 a	25,10	419,45	19,31	103,94	209,63
Fontes de Variação	----- Quadrados Médios -----					
Inoculante (I)	54,63*	0,07 ^{ns}	5821,02 ^{ns}	16,47*	51,69 ^{ns}	43,62 ^{ns}
Nitrogênio (N)	59,57*	0,16 ^{ns}	24,53 ^{ns}	1,72 ^{ns}	2,94 ^{ns}	37,79 ^{ns}
I X N	11,05 ^{ns}	0,15 ^{ns}	2002,41 ^{ns}	0,48 ^{ns}	64,65 ^{ns}	109,67 ^{ns}
CV (%)	5,83	15,82	12,16	8,77	8,67	4,22
Tratamento	CE (cm)	NFE (und)	NGF (und)	M100 (g)	PDTE (kg ha ⁻¹)	
Inoculante						
Controle	16,13	14,20	36,13	35,12	6169,25	
<i>A. brasilense</i>	16,60	14,21	36,54	34,41	6177,93	
<i>A. brasilense</i> + <i>Bacillus</i> sp.	16,47	14,21	37,47	36,05	6716,98	
Nitrogênio (kg ha ⁻¹)						
0	16,37	14,23	36,53	35,78	6179,83	
60	16,29	14,26	36,70	34,69	6557,52	
120	16,53	14,13	36,91	35,11	6326,81	
Fontes de Variação	----- Quadrados Médios -----					
Inoculante (I)	1,02 ^{ns}	0,07 ^{ns}	8,46 ^{ns}	12,13 ^{ns}	1772004,00 ^{ns}	
Adubação (A)	0,27 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,64 ^{ns}	5,40 ^{ns}	652454,43 ^{ns}	
I X A	0,66 ^{ns}	0,63*	4,88 ^{ns}	1,52 ^{ns}	797907,68 ^{ns}	
CV (%)	4,54	3,04	5,05	5,97	13,39	

^{ns} e * : não significativo e significativo a 5%, respectivamente, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados da Pesquisa.

Houve interação entre o uso de bactéria e a adubação nitrogenada de cobertura para a variável número de fileiras por espiga (Tabela 1). Quando se fez aplicação da *A. brasilense* o maior número de fileiras por espiga foi obtido na aplicação de 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio (Tabela 2), indicando o efeito positivo sinérgico desses tratamentos sobre

quantidade de fileiras de grãos da espiga. Avaliando o comportamento de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense*, estirpes AbV5 e AbV6, em dose de 90 e 45 kg ha⁻¹ de N em cobertura, Libório et al. (2016) não obtiveram efeito da inoculação nem da interação dos fatores estudados sobre essa variável.

Tabela 2 - Desdobramento da interação inoculante em pós-emergência e adubação de cobertura (I X A) no milho para a variável número de fileiras por espiga (NFE).

Inoculante	Nitrogênio (kg ha ⁻¹)		
	0	60	120
Controle	14,53 Aa	14,13 Aa	14,03 Aa
<i>A. brasilense</i>	13,86 Bb	14,53 Aa	14,36 ABa
<i>A. brasilense</i> + <i>Bacillus</i> sp.	14,20 Aab	13,96 Aa	14,23 Aa

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem estaticamente a 5% para o teste Tukey.

Fonte: Dados da Pesquisa.

Não houve influência dos tratamentos sobre a produtividade do milho (Tabela 2). Ao estudar a aplicação em pós-emergência de *Azospirillum brasilense* e doses de N em cobertura no milho de segunda safra, Kappes et al. (2017) constataram que a aplicação da bactéria em pós-emergência não proporcionou efeito sobre a produtividade da cultura. Resultados que corroboram o obtido por Ciciliato e Casimiro (2015), avaliando o efeito da aplicação dessa rizobactéria em pós-emergência e diferentes fertilizantes foliares.

Segundo Spolaor et al. (2016), a ausência de efeito da adubação nitrogenada de cobertura sobre a produtividade do milho nos tratamentos de inoculação, como verificada neste estudo, pode indicar uma relação competitiva entre essas tecnologias. Carvalho et al. (2014) afirmam que fertilizantes nitrogenados no solo reduzem a proporção e eficiência de fixação biológica de bactérias diazotróficas. Salienta-se que a produtividade dos tratamentos sem uso de bactérias (controle) e sem aplicação de nitrogênio em cobertura (0 kg ha⁻¹) apresentaram valores elevados e estatisticamente semelhantes aos demais neste estudo, possivelmente devido à mineralização de N da matéria orgânica do solo, à fixação biológica do N atmosférico pelas bactérias nativas do solo e/ou a adubação com nitrogênio na semeadura (12 kg ha⁻¹), em conformidade ao obtido por Kappes et al. (2017).

Acrescenta-se ainda que este estudo foi conduzido em sistema de semeadura direta em sucessão ao trigo, gramínea que apresenta elevada relação C/N da palhada, fato que pode ter causado a imobilização de parte do nitrogênio aplicado em cobertura na cultura do milho, mitigando o efeito dos tratamentos sobre a produtividade de grãos. Além disso, as condições meteorológicas favoráveis ao cultivo do milho, com temperatura variando de 16 a 33 °C e precipitação pluvial acumulada de 556 mm, adequadamente

distribuída durante o ciclo da cultura (Figura 1), associadas as características edáficas promoveram o crescimento e desenvolvimento satisfatório dos tratamentos controle.

Testando a aplicação de *Azospirillum brasilense* em pós-emergência e inoculada via semente sobre o desenvolvimento e a produtividade 29 híbridos de milho em sistema de plantio direto, Martins et al. (2012) verificaram que o uso da bactéria em pós-emergência permitiu a diferenciação dos híbridos selecionados para todas as características testadas e a possibilidade de uso dessa técnica para selecionar híbridos mais responsivos ao *Azospirillum*. Novos estudos envolvendo o uso de bactérias em pós emergência devem ser realizados visando o desenvolvimento dessa tecnologia, que busca evitar possíveis interações com produtos usados no tratamento de sementes, considerando aspectos relacionados à seleção de estirpes, às condições edafoclimáticas locais, aos híbridos utilizados e ao próprio sistema de manejo, incluindo a forma de inoculação das bactérias, os quais podem interferir nos resultados (Kappes et al., 2013).

Conclusão

A aplicação de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* sp., bem como a adubação nitrogenada de cobertura com 120 kg ha⁻¹ elevam teor de clorofila no milho. A aplicação conjunta das bactérias aumenta ainda o diâmetro do colmo da cultura.

A *Azospirillum brasilense* associada a aplicação de 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura incrementa o número de fileiras de grãos por espiga.

A aplicação de *Azospirillum brasilense* e/ou *Bacillus* sp. em pós-emergência no milho associada com a adubação nitrogenada de

cobertura não promove aumento no desempenho produtivo da cultura.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil [CAPES] - Código de Financiamento 001, pelo apoio.

Referências

Alvares, C. A., et al. (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22 (6), 711-728. DOI: 10.1127/0941-2948/2013/0507

Argenta, G., et al. (2003). Adubação nitrogenada em milho pelo monitoramento do nível de nitrogênio na planta por meio do clorofilômetro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27 (1), 109-119. DOI: 10.1590/S0100-06832003000100012.

Bassi, D., Menossi, M., & Mattiello, L. (2018). Nitrogen supply influences photosynthesis establishment along the sugarcane leaf. *Scientific reports*, 8 (2327), 1-13. DOI: 10.1038/s41598-018-20653-1.

Carvalho, T. L. G., et al. (2014). Nitrogen signalling in plant interactions with associative and endophytic diazotrophic bacteria. *Journal of experimental botany*, 65 (19), 5631-5642. DOI: 10.1093/jxb/eru319.

Ciciliato, A., & Casimiro, E. (2015). Inoculante *Azospirillum brasilense* via foliar associado a diferentes fertilizantes foliares na cultura do milho. *Revista Cultivando o Saber*, 8 (nesp.), 1-10.

Dartora, J., et al. (2013). Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 17(10), 1023-1029.

Felisberto, P. A. C., et al. (2015). Híbridos de Milho Submetidos à Adubação Nitrogenada Foliar Suplementar em Segunda Safra. *Revista Científica Eletrônica de Agronomia*, 27, 103-113.

Ferreira, D. F. (2014). SISVAR: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons.

Ciência e Agrotecnologia, 38 (2), 109-112. DOI: doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001

Galvão, J. C. C., Borém, A., & Pimentel, M. A. (2015). *Milho: do plantio a colheita* (351p). Viçosa: UFV.

Kappes, C., et al. (2013). Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. *Semina: Ciências Agrárias*, 34 (2), 527-538. Recuperado de <http://hdl.handle.net/11449/74766>.

Kappes, C., Silva, R. D., & Ferreira, V. E. N. (2017). Aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura no milho safrinha. *Scientia Agraria Paranaensis*, 16 (3), 366-373.

Libório, P. H. S., et al. (2016). Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada reduzida em híbridos de milho. *Nucleus*, 13 (2), 241-252. DOI: 10.3738/1982.2278.1559.

Martins, F. A. D., et al. (2012). Avaliação de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense*. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, 18 (2).

Mazzuchelli, R. D. C. L., Sossai, B. F., & Araújo, F. D. (2014). Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. *Colloquium Agrarie*, 10 (2), 40-47. DOI: 10.5747/ca.2014.v10.n2.a106

Ojuederie, O. B., Olanrewaju, O. S., & Babalola, O. O. (2019). Plant Growth Promoting Rhizobacterial Mitigation of Drought Stress in Crop Plants: Implications for Sustainable Agriculture. *Agronomy*, 9 (11), 712. DOI: 10.3390/agronomy9110712.

Oliveira, A. L., et al. (2017). Maize inoculation with *Azospirillum brasilense* Ab-V5 cells enriched with exopolysaccharides and polyhydroxybutyrate results in high productivity under low N fertilizer input. *Frontiers in microbiology*, 8, 1873. DOI: DOI.org/10.3389/fmicb.2017.01873.

Rambo, L., et al. (2011). Índices nutricionais de N e produtividade de milho em diferentes níveis de manejo e de adubação nitrogenada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46 (4), 390-397. DOI: 10.1590/S0100-204X2011000400008.

Repke, R. A., et al. (2013). Eficiência da Azospirillum brasilense combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 12 (3), 214-226. DOI: 10.18512/1980-6477/rbms.v12n3p214-226.

Rodrigues Neto, J. (1986). Meio simples para o isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. citri tipo B. *Summa Phytopathol*, 12, 16.

Sangoi, L., et al. (2011). Perfilhamento, área foliar e produtividade do milho sob diferentes arranjos espaciais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46 (6), 609-616. DOI: 10.1590/S0100-204X2011000600006.

Santos, H. G., et al. (2018). *Sistema brasileiro de classificação de solos* (356p). Brasília, DF: Embrapa.

Silva, A. F., et al. (2014). Produtividade de híbridos de milho em função do espaçamento e da população de plantas em sistema de plantio convencional. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 13 (2), 162-173. DOI: 10.18512/1980-6477/rbms.v13n2p162-173.

Souza, R. D., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and molecular biology*, 38 (4), 401-419. DOI: 10.1590/S1415-475738420150053.

Spolaor, L. T., et al. (2016). Bactérias promotoras de crescimento associadas a adubação nitrogenada de cobertura no desempenho agrônomo de milho pipoca. *Bragantia*, 75 (1), 33-40. DOI: 10.1590/1678-4499.330.

Tedesco, M. J., Gianello, C., & Bissani, C. A. (1995). *Análise de solo, plantas e outros materiais*. (Boletim Técnico de Solos, n.5, 174p). Porto Alegre: UFRGS.

Recebido em: 25/01/2020

Aceito em: 25/05/2021