



DESENVOLVIMENTO E PRODUTIVIDADE DO MILHO VERDE SAFRINHA EM RESPOSTA À APLICAÇÃO FOLIAR COM *Azospirillum brasilense*

Francisco José Domingues Neto¹, Francisco Kido Yoshimi¹, Raquel Doratiotto Garcia¹, Yukio Ricardo Miyamoto¹, Marcio Christian Serpa Domingues²

1. Graduandos em Engenharia Agrônoma da Universidade de Marília (fjdominguesneto@hotmail.com)
2. Professor Doutor da Universidade de Marília, Marília-Brasil

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

RESUMO

O milho verde é caracterizado por apresentar grãos com alto teor de açúcares e pouco amido no endosperma, estas características tornam os grãos vítreos, devido à cristalização dos açúcares, e enrugados devido à menor proporção de amido no endosperma. Bactérias do gênero *azospirillum* apresentam grande potencial na reabilitação de áreas e principalmente na sustentabilidade dos agroecossistemas, por incorporarem nitrogênio de forma biológica, além de produzirem e disponibilizarem substâncias reguladoras e promotoras do crescimento vegetal, como é o caso das auxinas, giberelinas e citocininas, que podem melhorar a nutrição mineral assim como a utilização de água pelas plantas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desenvolvimento e produtividade do milho na safrinha, cultivado como milho verde, sob o efeito da aplicação foliar com *Azospirillum brasilense* em diferentes dosagens. O experimento foi realizado a vaso na Universidade de Marília (Marília/SP), em blocos casualizados com 6 tratamentos e 8 repetições, os tratamentos consistiram nas dosagens de 0, 1, 2, 3, 4 e 5 mL L⁻¹ sendo as pulverizações iniciadas aos 14 dias após a semeadura, realizadas semanalmente, sendo 12 pulverizações. Os parâmetros avaliados foram: altura de plantas, diâmetro do colmo, número de folhas, massa de uma espiga, massa fresca e seca da parte aérea e radicular. O uso de *Azospirillum brasilense* em aplicação foliar não aumentou a produtividade do milho verde, promovendo significativas alterações no sistema radicular e na parte aérea da cultura em estudo, com elevação significativa na produção de biomassa.

PALAVRAS-CHAVE: Fixação biológica de nitrogênio, *zea mays*, bactérias diazotróficas.

DEVELOPMENT AND PRODUCTIVITY OF SECOND CROP CORN IN RESPONSE TO THE FOLIAR APPLICATION WITH *Azospirillum brasilense*

ABSTRACT

The green corn is characterized by the high content of sugars and little starch in the endosperm of its grains. These features make the grains vitreous due to crystallization of sugars, and wrinkled due to the lower proportion of starch in the

endosperm. Bacteria like *Azospirillum* present a great potential in the rehabilitation of areas and mainly in the sustainability of agro ecosystems because they biologically incorporate nitrogen besides producing and making available regulator and growth-promotor substances, as for example auxins, gibberellins and cytokines, which can improve the mineral nutrition and the water absorption by the plants. This work aimed at evaluating the development and productivity of second crop corn, grown as green corn under the effect of foliar application with *Azospirillum brasilense* in different doses. The experiment was performed in vase at the University of Marília (Marília/SP), in blocks randomized with 6 treatments and 8 replications. The treatments consisted of doses of 0, 1, 2, 3, 4 and 5 mL L⁻¹ with the sprayings beginning 14 days after the seeding and being performed weekly, adding up to 12 sprayings. The analyzed parameters were the following: plant height, thatch diameter, number of leaves, ear matter, fresh and dry matter in the root and the aerial part. The use of *Azospirillum brasilense* in foliar application did not increase the productivity of corn, promoting significant changes in roots and shoots of the culture under study, with a significant increase in biomass production.

KEYWORDS: Biological nitrogen fixation, *zea mays*, diazotrophic bacteria.

INTRODUÇÃO

A produção do milho verde sempre foi uma tradição no Brasil e se tornou uma alternativa de grande valor econômico para pequenos e médios agricultores em razão do bom preço de mercado e da demanda pelo produto *in natura*. É consumido em determinadas épocas do ano nas regiões de produção, sendo apreciado nos mais diferentes preparos como espiga cozida, assada ou para processamento como mingau, pamonha, suco e ingrediente para fabricação de bolo, biscoitos, sorvetes, etc (PEREIRA FILHO, 2008).

Por se tratar de um produto de boa aceitação e alto valor agregado, o milho verde costuma atingir melhores preços de mercado que o milho grão, sendo uma alternativa viável para os pequenos produtores (PAIVA JUNIOR et al., 2001).

O milho colhido verde é cultivado de forma intensiva praticamente o ano todo, desde que sejam satisfeitas as exigências hídricas da cultura por meio de irrigações suplementares nos períodos de déficit hídrico (PAIVA JUNIOR, 1999).

O milho verde deve ser colhido estando o grão no estado leitoso, e apresentando de 70 a 80% de umidade. Esse ponto de colheita é muito variável, por depender das condições climáticas resultantes de diferentes épocas de semeadura, ou da região onde a lavoura foi instalada (PEREIRA FILHO, 2008).

O nitrogênio possui papel fundamental no metabolismo vegetal por participar diretamente na biossíntese de proteínas e clorofilas (ANDRADE et al., 2003).

Devido à crescente busca por sustentabilidade nos sistemas agrícolas de produção, alguns autores têm apresentado como forma alternativa para a economia de fertilizante nitrogenado, a fixação biológica de nitrogênio (FBN), a qual pode suplementar ou, até mesmo substituir a utilização destes fertilizantes (REIS JÚNIOR et al., 1998; BERGAMASCHI, 2006).

Uma das possibilidades para viabilizar uma produção com menores custos sem prejudicar o ambiente seria a utilização do potencial genético das plantas, aliado aos recursos biológicos do solo, como as bactérias diazotróficas, que são consideradas promotoras de crescimento vegetal por possuírem a capacidade de

fixar nitrogênio (N₂) para a planta, e de produzir hormônios de crescimento como auxinas e giberelinas, que estimulam o crescimento vegetal principalmente das raízes, atuando na maior absorção de nutrientes e água (DOBBELAERE et al., 2002).

Existe grande interesse em práticas alternativas que visem a redução na aplicação e aumento da eficiência na utilização de insumos nas áreas de produção agrícola. Dentre os processos biológicos que ocorrem na natureza, a fixação biológica do nitrogênio atmosférico é realizada por um grupo restrito de bactérias, denominadas diazotróficas. Dentre estas, as do gênero *Azospirillum*, principalmente a espécie *Azospirillum brasilense*, tem sido usada como inoculante em diversas culturas, como os cereais, algodão, cana-de-açúcar, café, braquiárias e outras (REIS, 2007).

Segundo HUNGRIA (2011), atualmente o *Azospirillum* spp. são comercializados para inoculação em trigo e milho, com aumentos de 31 e 26% na produtividade de grãos, respectivamente.

A interação positiva entre estas bactérias e o milho tem sido demonstrada por vários autores e, embora o maior obstáculo para a utilização desta tecnologia é a inconsistência de resultados em condições de campo, ligada a fatores como condições edafoclimáticas e interações com a biota do solo (DOBBELAERE et al., 2001; REIS, 2007).

As bactérias promotoras de crescimento (BPC) são microrganismos que vivem em associação simbiótica com as plantas. Essas, além de propiciarem maior eficiência na fixação de nitrogênio, estão associadas à produção de fitormônios, aumento da área de absorção radicular, melhoria dos parâmetros fotossintéticos das folhas, dentre eles, o teor de clorofila e condutância estomática, maior teor de prolina na parte aérea e raízes, melhoria no potencial hídrico, incremento no teor de água do apoplasto, maior elasticidade da parede celular, maior altura de planta e maior produção de biomassa (BARASSI et al., 2008).

Vários trabalhos têm demonstrado resultados eficientes da inoculação de BPC em gramíneas, as quais destaca-se o gênero *Azospirillum*, que apresenta capacidade de induzir respostas à planta em melhorar o aproveitamento dos recursos disponíveis no ambiente (BERGAMASCHI et al., 2006).

Sendo assim o objetivo do presente trabalho foi avaliar o desenvolvimento e produtividade de um híbrido de milho na safrinha, cultivado como milho verde, sob o efeito da aplicação foliar com *Azospirillum brasilense* em diferentes dosagens.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em vaso com área de 0,08552 m², na safrinha de 2013, na Fazenda Experimental Marcelo Mesquita Serva pertencente à Universidade de Marília - SP, com latitude 22° 12' 50" S, longitude 49° 56' 45" O e altitude de 675 m.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com 6 tratamentos e 8 repetições, sendo os tratamentos constituídos de: T1: Testemunha; T2: 1 mL L⁻¹; T3: 2 mL L⁻¹; T4: 3 mL L⁻¹; T5: 4 mL L⁻¹ e T6: 5 mL L⁻¹.

No dia da semeadura foi realizada a adubação de plantio com superfosfato simples, sendo 4,3 g/vaso⁻¹, em cada vaso foram semeadas cinco sementes, sendo que, após o estabelecimento das plantas, realizou-se o desbaste, onde permaneceu somente uma planta, a qual foi submetida a todas as avaliações. Foi utilizado o

híbrido simples P3646H com tratamento adicional de poncho (Clotianidina 350 mL 100 kg sementes⁻¹).

As aplicações foliares com *Azospirillum brasilense* foram realizadas semanalmente, utilizando o produto líquido Masterfix gramíneas, composto das estirpes Abv5 e Abv6, e se iniciaram aos 14 DAS (Dias Após a Semeadura), prolongando-se até a colheita do milho, totalizando 12 aplicações.

Aos 30 e 50 DAS foi feita adubação de cobertura, com sulfato de amônio (6 g vaso⁻¹) e cloreto de potássio (1,5 g vaso⁻¹), respectivamente.

Os parâmetros avaliados foram: altura de plantas (medido na base do solo até o ápice da maior folha); diâmetro do colmo (Utilizando paquímetro manual); número de folhas; massa da maior espiga por planta; massa fresca da parte aérea e do sistema radicular e massa seca da parte aérea e do sistema radicular (as plantas foram cortadas e levadas para secar em estufa de circulação de ar a 65°C, até atingirem massa constante).

Os dados obtidos foram submetidos ao teste T (LSD) de média, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso de *Azospirillum brasilense* via foliar em plantas de milho, não influenciou na altura média de plantas durante todos os dias de avaliação (Tabela 1).

Dado este que corrobora com o obtido por CAVALLET et al. (2000), em que a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum* spp. não influenciou nesta característica morfológica. Entretanto, os resultados discordam com os obtidos por RAMOS et al. (2010), os quais constataram maior altura de planta de milho nos tratamentos que envolveram a inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. em relação ao tratamento testemunha e aplicação de 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura.

CAMPOS et al. (2000), avaliando inoculante a base de *Azospirillum* spp. na cultura do milho em condições de campo, não encontraram diferenças estatísticas para número de plantas, número de espigas, estatura de plantas e rendimento de grãos. CAVALLET et al. (2000) avaliando o efeito de inoculante a base de *Azospirillum* spp., verificaram que apesar da produtividade ter sido acrescida pela inoculação, a altura de plantas não foi alterada.

TABELA 1. Altura média de plantas de milho (cm), aos 21, 35, 49 e 63 DAS, submetida a diferentes doses de *Azospirillum brasilense* na aplicação foliar. Marília - SP, 2013.

Trat.	21 DAS	35 DAS	49 DAS	63 DAS
T1	24,79 a	55,06 a	108,96 a	143,17 a
T2	25,30 a	56,53 a	115,52 a	147,08 a
T3	23,91 a	51,26 a	109,33 a	138,30 a
T4	23,01 a	50,91 a	110,56 a	142,61 a
T5	22,12 a	55,90 a	108,33 a	134,81 a
T6	24,28 a	58,43 a	111,78 a	146,52 a
CV (%)	21,88	14,33	10,07	14,97

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo Teste T de médias, ao nível de 5% de probabilidade.

REIS et al. (2000) descreveram que em muitos casos, a ausência de resposta à inoculação das sementes com bactérias diazotróficas, tem sido atribuída ao uso de linhagens inadequadas. Entretanto, há consenso de que o genótipo da planta é o fator-chave para que se obtenha sucesso na associação entre planta e microrganismo.

De acordo com a (Tabela 2), o diâmetro do colmo aos 21, 35 e 49 dias após a semeadura (DAS) não foi significativo para os tratamentos que receberam a bactéria comparado com a testemunha (sem a bactéria).

Dado este que corrobora com o obtido por PORTUGAL et al. (2012), na qual os autores verificaram que todos os tratamentos não influenciaram no diâmetro de colmo e na altura de plantas.

TABELA 2. Diâmetro médio do colmo de milho (cm), aos 21, 35, 49 e 63 DAS, submetida a diferentes doses de *Azospirillum brasilense* na aplicação foliar. Marília - SP, 2013.

Trat.	21 DAS	35 DAS	49 DAS	63 DAS
T1	0,88 a	1,82 a	2,50 a	2,58 c
T2	0,82 a	1,72 a	2,41 a	2,81 abc
T3	0,78 a	1,77 a	2,41 a	2,76 bc
T4	0,75 a	1,86 a	2,63 a	3,01 a
T5	0,80 a	1,81 a	2,36 a	2,80 abc
T6	0,75 a	1,87 a	2,55 a	2,95 ab
CV (%)	22,91	13,37	11,70	8,24

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo Teste T de médias, ao nível de 5% de probabilidade.

Já aos 63 (DAS) os tratamentos 4 e 6 diferiram da testemunha, sendo estes 16 e 14%, respectivamente, superior que a testemunha (T1). Os tratamentos 2, 3 e 5 não diferiram, porém foram superiores à testemunha.

O número médio de folhas (Tabela 3), também não foi incrementado com o uso de *Azospirillum* spp. na aplicação foliar. Deve-se proceder mais pesquisas a respeito da forma, doses e épocas de aplicação, bem como as estirpes de *Azospirillum* spp. utilizadas nas diferentes culturas e regiões.

O benefício da inoculação do milho com bactérias diazotróficas depende de fatores como genótipo da planta, estirpes selecionadas, inter-relação entre ambos e o meio ambiente (SALA et al., 2007).

TABELA 3. Número médio de folhas de milho, aos 21, 35, 49 e 63 DAS, submetida a diferentes doses de *Azospirillum brasilense* na aplicação foliar. Marília-SP, 2013.

Trat.	21 DAS	35 DAS	49 DAS	63 DAS
T1	5,12 a	8,37 a	11,62 a	14,37 a
T2	5,12 a	8,37 a	11,50 a	14,87 a
T3	5,00 a	8,62 a	11,87 a	14,75 a
T4	5,00 a	8,12 a	12,00 a	14,50 a
T5	5,00 a	8,25 a	11,12 a	14,37 a
T6	5,25 a	8,50 a	11,87 a	14,62 a
CV (%)	8,53	8,82	8,79	5,14

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo Teste T de médias, ao nível de 5% de probabilidade.

A massa de uma espiga não foi significativa entre os tratamentos, onde apenas o tratamento 2 foi superior da testemunha (Tabela 4), ou seja, a produtividade não foi incrementada com o uso de *A. brasilense*.

Resultado este que contradiz os obtidos por SALOMONE & DOBEREINER (1996) e OKON & VANDERLEYDEN (1997), nos quais encontraram aumentos de produtividade com a inoculação de *Azospirillum* spp. nas mais diversas condições de cultivo oriundos, provavelmente, dos efeitos benéficos dessas bactérias na fixação biológica de nitrogênio.

Em trabalho realizado por GODOY et al. (2011), apenas com inoculação de *Azospirillum* spp., não se obtiveram incremento na produtividade do milho.

A massa fresca tanto da parte aérea quanto do sistema radicular foi incrementada significativamente, culminando os resultados para o tratamento 4, que na (MFPA) foi 18% superior que a testemunha e na (MFSR) foi 33% (Tabela 4). A alta produção de biomassa da parte aérea e raízes se deram devido à colonização das bactérias no colmo e sistema radicular do milho, promovendo a FBN e indução de reguladores vegetais nas plantas.

Segundo GARCIA; SALOMONE et al. (1996) algumas variedades de milho cultivadas em vasos a céu aberto puderam fixar por volta de 58% do seu requerimento em nitrogênio, quando inoculadas com *azospirillum* spp.

TIEN et al. (1979), verificaram que os componentes responsáveis pelo estímulo do crescimento de raízes liberados por *A. brasilense* eram o ácido indolacético (AIA), giberelinas e citocininas. O maior desenvolvimento das raízes pela inoculação com *Azospirillum* spp. pode implicar em vários outros efeitos. Já foram relatados incrementos na absorção da água e minerais, maior tolerância a estresses como salinidade e seca, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (BASHAN & HOLGUIN, 1997; DOBBELAERE et al., 2001; BASHAN et al., 2004). Provavelmente pelo maior crescimento radicular e melhor nutrição das plantas, também há vários relatos de maior tolerância a agentes patogênicos de plantas (CORREA et al., 2008).

A eficiência da utilização de *Azospirillum* spp. no desenvolvimento da cultura do milho, já tem sido objeto de pesquisa a vários anos (OKON & VANDERLEYDEN 1997), baseando-se em dados acumulados durante 22 anos de pesquisa de campo com experimentos de inoculação, concluíram que o gênero *Azospirillum* promove ganhos em rendimento em importantes culturas nas mais variadas condições de clima e solo; contudo, esses autores salientam que, além da fixação biológica de nitrogênio, essas bactérias auxiliam no aumento da superfície de absorção das raízes da planta e, conseqüentemente, no aumento do volume de substrato de solo explorado.

Tal constatação é justificada pelo fato de a inoculação modificar a morfologia do sistema radicular, aumentando não apenas o número de radículas, mas também o diâmetro das raízes laterais e adventícias. Parte ou talvez muitos desses efeitos de *Azospirillum* spp. nas plantas podem ser atribuídos à produção, pela bactéria, de fitormônios, substâncias promotoras de crescimento, entre elas auxinas, citocininas e giberelinas, e não somente à fixação de nitrogênio (CAVALLET et al., 2000; REIS JÚNIOR et al., 2004).

Atualmente, existe concordância na literatura de que as vantagens da associação de plantas com *Azospirillum* spp. são mais relacionados à promoção do desenvolvimento vegetal, principalmente do sistema radicular, do que à (FBN),

embora haja inúmeros relatos que apontam para a viabilidade desse processo (OLIVEIRA et al. 2007). Corroboram também com os resultados obtidos no estudo realizado por OKON & VANDERLEYDEN, (1997), no qual os autores afirmam que esses microrganismos contribuem, não só com a (FBN), mas principalmente, proporcionando alterações morfológicas e fisiológicas nas raízes de plantas inoculadas.

TABELA 4. Massa de uma espiga, massa fresca da parte aérea (MFPA), sistema radicular (MFSR), massa seca da parte aérea (MSPA) e o sistema radicular (MSSR) (g) submetida a diferentes doses de *Azospirillum brasilense* na aplicação foliar. Marília - SP, 2013.

Trat.	Massa de 1 espiga	M.F.P.A.	M.F.S.R.	M.S.P.A.	M.S.S.R.
T1	330,00 a	423,12 ab	351,25 b	93,96 b	101,52 b
T2	333,75 a	444,37 ab	334,37 b	99,36 ab	105,50 b
T3	285,62 a	415,00 b	402,50 ab	93,20 b	112,26 ab
T4	293,75 a	499,37 a	468,75 a	113,92 a	157,43 a
T5	284,16 a	421,66 ab	331,66 b	91,55 b	93,22 b
T6	302,50 a	450,00 ab	413,12 ab	100,27 ab	126,73 ab
CV (%)	23,16	17,74	30,11	18,59	43,07

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo Teste T de médias, ao nível de 5% de probabilidade.

Para os parâmetros de massa seca da parte aérea (MSPA) e do sistema radicular (MSSR), o tratamento 4 manteve-se superior aos demais, sendo 21% superior que a testemunha na (MSPA) e 55% na (MSSR) (Tabela 4). Se transformarmos a (MSPA) do tratamento 4 em ton ha^{-1} , teremos o valor de 13 ton ha^{-1} , valor este que corrobora com os apresentados por WUTKE et al. (2009), que declaram que o milho produz de 10 a 20 ton ha^{-1} de massa seca.

Este incremento no acúmulo de massa seca da planta em resposta à inoculação pode ser associado à produção de fitormônios pelas bactérias como auxinas, giberelinas e citocininas, que estimulam a formação de pêlos radiculares e raízes secundárias, resultando em maior superfície de absorção de água e nutrientes (RADWAN et al., 2004).

De acordo com MUÑOZ-GARCIA et al. (1991) a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* cepa UAP 77, promoveu aumento na matéria seca de raízes, da ordem de 54 a 86% e de 23 a 64% na matéria seca da parte aérea. Por sua vez, SALOMONE; DOBEREINER (1996) avaliando a resposta de vários genótipos de milho à inoculação de quatro estirpes de *Azospirillum* spp. isoladas na Argentina e três de raízes de sorgo e milho isoladas no Brasil, constataram aumento de peso de grãos, variando em diferentes genótipos, da ordem de 1.700 a 7.300 kg ha^{-1} ; contudo, tais resultados são bastante influenciados pelas condições de solo, ambiente e genótipos de planta.

DIDONET et al. (1996) mencionam que são muitas as evidências de que a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* seja responsável pelo aumento da taxa de acúmulo de matéria seca, principalmente na presença de elevadas doses de nitrogênio, o que parece estar relacionado com o aumento da atividade das enzimas fotossintéticas e de assimilação de nitrogênio.

CONCLUSÃO

Nas condições em que o experimento foi desenvolvido, o uso de *Azospirillum brasilense* não aumentou a produtividade do milho verde na safrinha, elevando a produção biomassa da parte aérea e raízes, promovendo uma maior área de solo explorado.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, A. C.; FONSECA, D. M.; QUEIROZ, D. S.; SALGADO, L.T.; CECON, P. R. Adubação nitrogenada e potássica em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier). **Revista Ciência e Agrotecnologia**, p.1643-1651, 2003. Edição especial.

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

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.

BERGAMASCHI, C. **Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo**. 2006. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; COMIRAN, F.; BERGONCI, J. I.; MÜLLER, A. G.; FRANÇA, S.; SANTOS, A. O.; RADIN, B.; BIANCHI, C.A.M.; PEREIRA, P. G. Déficit hídrico e produtividade na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p.243-249, 2006.

CAMPOS, B. H. C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. Avaliação do inoculante “graminante” na cultura de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.3, n.4, p.713-715, 2000.

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 e Ambiental**, v.4, n.1, p.129-132, 2000.

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* spp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.87-95.

DIDONET, A. D.; RODRIGUES, O; KENNER, M. H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.16, n.9, p.645-651, 1996.

DOBBELAERE, S.; C, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; D, P.; LABANDERA-GONZALEZ, C.; CABALLE ROMELLADO, J.; AGUIRRE, J. F.; KAPULNIK, Y.; BRENER, S.; BURDMAN, S.; KADOURI, D.; SARIG, S.; OKON, Y. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.28, n.9, p.871- 879, 2001.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, 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**, Berlin, v. 36, n. 4, p. 284-297, 2002.

GARCIA DE SALAMONE, I.E.; DÖBEREINER, J.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain-maize genotype associations as evaluated by ¹⁵N isotope dilution technique. **Biology and Fertility of Soils**, v.23, p.249-256, 1996.

GODOY, J. C. S; WATANABE, S. H.; FIORI C. C. L.; GUARIDO, R. C. Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio com e sem inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. **Campo Digital**, v.6, n.1, p.26-30, Campo Mourão, jan/jul., 2011.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Embrapa Soja** – Documento 325, 2011.

MUÑOZ-GARCIA, A.; CABALLERO-MELLADO, J.; VALDÉS, M. Promoción del crecimiento del maíz por cepas productoras de sideróforos de *Azospirillum* y *Pseudomonas fluorescentes*. In: CONGRESO NACIONAL DE LA FIJACION BIOLOGICA DEL NITROGENO Y I ENCUENTRO IBEROAMERICANO DE INVESTIGACION SOBRE FIJACION DE NITROGENO, 3., 1991. Cuernavaca. **Anais...** Cuernavaca, México, p.61. 1991.

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

OLIVEIRA, A. P. P. OLIVEIRA DE S. W. JUNIOR B. W. Produção de forragem e qualidade de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com *Azospirillum brasilense* e fertilizada com nitrogênio; EMBRAPA; **Circular Técnica 54**. São Carlos-SP, p.6, 2007.

PAIVA JUNIOR, M. C. **Desempenho de cultivares para produção de milho verde em diferentes épocas e densidades de semeadura**. 1999. 66 p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

PAIVA JUNIOR, M. C.; VON PINHO, R. G.; VON PINHO, É. V. R.; RESENDE, S. G. Desempenho de cultivares para a produção de milho verde em diferentes épocas e densidade de semeadura em Lavras-MG. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.5, p.1235-1247, set./out., 2001.

PEREIRA FILHO, I. A. A cultura do milho verde. Brasília, DF: **Embrapa informação tecnológica**, 61 p.: il - (Coleção Plantar, 59) 2008.

PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; LONGUI, W. V.; GITTI, D. C.; BARBIERI, M. K. F.; GONZAGA, A. R. e TEIXEIRA, D. S. Inoculação com *Azospirillum brasilense* via foliar associada à doses de nitrogênio em cobertura na cultura do milho. In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Águas de Lindóia, p.1413-1419, ago. 2012.

RADWAN, T. E. E.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.10, p.987-994, 2004.

RAMOS, A. S.; SANTOS, T. M. C.; SANTANA, T. M.; GUEDES, E. L. F.; MONTALDO, Y. C. Ação do *Azospirillum lipoferum* no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Verde**, v.5, n.4, p.113-117, 2010.

REIS JÚNIOR, F. B.; DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M.; MACHADO, A. T. Seleção de genótipos de milho e arroz mais eficientes quanto ao ganho de N através de fixação biológica de N₂. **Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia**, nov. 1998. 23 p. (Documento, n. 73).

REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L.; DÖBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.19, p.227-247, 2000.

REIS JUNIOR, F. B.; SILVA, M. F.; TEIXEIRA, K. R. S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Identificação de isolados de *Azospirillum amazonense* associados a *Brachiaria* spp., em diferentes épocas e condições de cultivo e produção de fitormônio pela bactéria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 103-113, 2004.

REIS, V. M. Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. **Seropédica: Embrapa Agrobiologia**, 2007. 22p. (Documentos, 232).

SALA, V. M. R.; SILVEIRA, A. P. D. da; CARDOSO, E. J. B. N. Bactérias diazotróficas associadas a plantas não-leguminosas. In: SILVEIRA, A.P. da; FREITAS, S. dos S. Microbiota do solo e qualidade ambiental. Campinas: IAC, 2007. Cap. 6, p. 97-116.

SALOMONE, G.; DÖBEREINER, J. Maize genotypes effects on the response o *Azospirillum* inoculation. **Biology Fertilizer Soils**, Oxford, v.21, p.193-196, 1996.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v.37, p.1016-1024, 1979.

WUTKE, E. B.; TRANI, P. E.; AMBROSANO, E. J.; DRUGOWICH, M. I. **Adubação Verde no Estado de São Paulo**. Campinas, SP, CATI. 92p., 2009. (Boletim técnico n. 249).