

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA-CIENCIA DO SOLO

DISSERTAÇÃO

Benefícios da Inoculação de Microrganismos
Promotores de Crescimento de Plantas (MPCP), na
Eficiência da Adubação Nitrogenada na Cultura do
Milho (*Zea mays*)

Andreia Laurindo de Almeida Gomes

2025



**UNIFERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA –
CIENCIA DO SOLO**

**BENEFÍCIOS DA INOCULAÇÃO DE MICRORGANISMOS
PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS (MPCP) NA
EFICIÊNCIA DA ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO
MILHO (*ZEA MAYS*)**

ANDREIA LAURINDO DE ALMEIDA GOMES

Sob a orientação do Pesquisador

Segundo Sacramento Urquiaga Caballero

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra**, no Programa de Pós-graduação em Agronomia - Ciência do solo, Área de Concentração em Manejo do Solo e Qualidade Ambiental.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2025

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central/Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
Com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G633b	Gomes, Andreia Laurindo de Almeida, 1997- Benefícios da inoculação de microrganismos promotores de Crescimento de plantas (MPCP) na eficiência da adubação nitrogenada na cultura do milho (<i>Zea mays</i>)/ Andreia Laurindo de Almeida Gomes. – Seropédica, 2025. 46 f.: il. Orientador: Segundo Sacramento Urquiaga Caballero. Dissertação (Mestrado). – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo, 2025. 1. Nitrogênio. 2. Inoculantes. 3. Fertilização. I. Caballero, Segundo Sacramento Urquiaga, 1950-, orient. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Agronomia - Ciência do Solo. III. Título.
-------	---

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Brasil – Código de Financiamento 001.

Este trabalho contou ainda com o apoio do FNDCT/CT - AGRO/FINEP (Convênio 01.22.0080.00, Ref. 1219/21).



**HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº 18 / 2025 - CPGACS
(12.28.01.00.00.27)**

Nº do Protocolo: 23083.015931/2025-00

Seropédica-RJ, 28 de março de 2025.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE AGRONOMIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO

ANDREIA LAURINDO DE ALMEIDA GOMES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo, Área de Concentração em Manejo do Solo e Qualidade Ambiental.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 18/02/2025.

Segundo Sacramento Urquiaga Caballero. Dr. Embrapa Agrobiologia
(Orientador)

Irene da Silva Coelho. Dra. UFRRJ

Josimar Nogueira Batista. Dr. UENF

(Assinado digitalmente em 02/04/2025 09:32)

IRENE DA SILVA COELHO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DMIV (12.28.01.00.00.00.54)
Matrícula: 1815763

(Assinado digitalmente em 01/04/2025 09:30)

JOSIMAR NOGUEIRA BATISTA
ENGENHEIRO AGRONOMO
CEXTECAMPOS (11.39.00.04)
Matrícula: 1337586

(Assinado digitalmente em 31/03/2025 08:49)

SEGUNDO SACRAMENTO URQUIAGA CABALLERO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 058.898.198-28

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp>
informando seu número: **18**, ano: **2025**, tipo: **HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**, data de emissão: **28/03/2025** e o código de verificação: **fac55eb1c3**

AGRADECIMENTOS

A Deus por iluminar esta caminhada; Aos meus pais e irmãos, que mesmo longe, transmitiram suas orações e sempre torceram por mim;

Aos amigos do grupo de Ciclagem de Nutrientes, por toda ajuda e convivência.

Aos analistas da EMBRAPA Agrobiologia, Eliane e Renato Moutinho, pela realização das análises realizadas nas plantas.

Ao Dr. Segundo Urquiaga, pelo acompanhamento durante o mestrado, paciência e disponibilidade durante a realização do trabalho;

À Embrapa Agrobiologia e Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela capacitação e formação.

BIOGRAFIA

Andreia Laurindo de Almeida Gomes, filha de Agmário Hilário Gomes e Ana Paula Laurindo de Almeida Gomes, nasceu em 2 de novembro de 1997 na cidade de Nova Iguaçu, RJ. Em 2017, cursou o ensino médio concomitante com o curso Técnico em Telecomunicações na Fundação de Apoio à Escola Técnica (Faetec) em Quintino, RJ. Graduiu-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no ano de 2023. Durante a graduação, foi bolsista de iniciação científica no Laboratório das relações solo-planta (LSP) da UFRRJ, de janeiro de 2020 a dezembro de 2023, sob orientação da Dr. Everaldo Zonta. Em 2023 ingressou no Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, nível de maestria, sob a orientação da Dr. Segundo Sacramento Urquiaga Caballero.

RESUMO

GOMES, Andreia Laurindo de Almeida. **Benefícios da inoculação de microrganismos promotores de Crescimento de plantas (MPCP) na eficiência da adubação nitrogenada na cultura do milho (*Zea mays*)**. 2025. 46 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

O manejo eficiente do fertilizante nitrogenado aliado ao uso de inoculantes é uma estratégia para melhorar a eficiência de uso do N-fertilizante pelas culturas em solos com baixa disponibilidade de fornecimento de N. Considerando o elevado custo tanto econômico quanto ambiental do processo de adubação com fertilizantes nitrogenados, e aliado ao aumento da demanda por alimentos, surge a necessidade de se incorporar, à atividade agrícola, novas tecnologias que visem a diminuição do uso de fertilizantes nitrogenados. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de 5 inoculantes formulados com microrganismos promotores de crescimento, associado a adubação nitrogenada, no crescimento e na eficiência da adubação nitrogenada na cultura do milho. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Embrapa Agrobiologia localizada no município de Seropédica-RJ. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, contando com 10 tratamentos (dose de N e inoculantes de microrganismos promotores do crescimento de plantas, MPCPs) e cinco repetições, sendo utilizado dois tipos de solo (Latossolo e Argissolo). Os tratamentos avaliados foram: T1: 0 mg N kg⁻¹ solo⁻¹, T2: 50 mg N kg solo⁻¹, T3: 100 mg N kg solo⁻¹, T4: 150 mg N kg solo⁻¹, T5: 50 mg N kg solo⁻¹ + Ab-V5 + Ab-V6, T6: 50 mg N kg solo⁻¹ + BiomaPhos, T7: 50 mg N kg solo⁻¹ + Aprinza; T8: 50 mg N kg solo⁻¹ + Fungo micorrízico arbuscular (FMA); T9: 50 mg N kg solo⁻¹ + SP245 + *Herbaspirillum seropedicae* e T10: 100 mg N kg solo⁻¹ + Ab-V5 + Ab-V6. Foram avaliados os acúmulos de massa seca e teores de N na planta. Também foram avaliados os índices de clorofila total, altura e diâmetro do colmo, eficiência de uso do N-fertilizante e o teor de macro e micronutrientes nas plantas. Os tratamentos T2, T5, T6, T7, T8, T9 e T10 foram marcados com ¹⁵N para avaliar a eficiência do fertilizante nitrogenado. A aplicação de doses crescentes de N-uréia proporcionou maior acúmulo de massa seca e teor de N na planta. A inoculação com os MPCPs proporcionou maior eficiência de uso do N-fertilizante, sendo no Argissolo a inoculação com Aprinza (89,6%) e no Latossolo com Ab-V5 + Ab-V6 (86%). Apenas os teores de K, Fe, Zn e Mn tiveram resposta significativa após a inoculação com os inoculantes Ab-V5 + Ab-V6, BiomaPhos, Aprinza e FMA. O teor de clorofila, diâmetro do colmo e altura das plantas foi favorecido pela inoculação principalmente do BiomaPhos, FMA e AbV5+AbV6 e SP245/*Herbaspirillum*.

Palavras-chave: Nitrogênio. Inoculantes. Fertilização.

ABSTRACT

GOMES, Andreia Laurindo de Almeida. **Benefits of inoculating growth-promoting microorganisms in plants on nitrogen efficiency in corn crops (*Zea mays*)**. 2025. 46 p. Dissertation (Master's in Agronomy, Soil Science). Institute of Agronomy, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

The efficient management of nitrogen fertilizer combined with the use of bioinputs is a strategy to improve the efficiency of N-fertilizer use by crops in soils with low availability of N supply. Considering the high economic and environmental cost of the fertilizer fertilization process nitrogen fertilizers, and combined with the increase in demand for food, there is a need to incorporate new technologies into agricultural activities aimed at reducing the use of nitrogen fertilizers. The objective of the work was to evaluate the effect of 5 bioinoculants formulated with growth-promoting microorganisms, associated with nitrogen fertilization on the growth and efficiency of nitrogen fertilization in corn plants. The experiment was conducted in a greenhouse at Embrapa Agrobiologia located in the municipality of Seropédica-RJ. The experimental design used was in randomized blocks, with 10 treatments (dose of N and inoculants of plant growth-promoting microorganisms, MPCPs) and five replications, using two types of soil. The treatments evaluated were: T1: 0 mg N kg⁻¹ soil⁻¹, T2: 50 mg N kg soil⁻¹, T3: 100 mg N kg soil⁻¹, T4: 150 mg N kg soil⁻¹, T5: 50 mg N kg soil⁻¹ + Ab-V5 + Ab-V6, T6: 50 mg N kg soil⁻¹ + BiomaPhos, T7: 50 mg N kg soil⁻¹ + Aprinza; T8: 50 mg N kg soil⁻¹ + Arbuscular mycorrhizal fungus; T9: 50 mg N kg soil⁻¹ + SP245 + *Herbaspirillum seropedicae* and T10: 100 mg N kg soil⁻¹ + Ab-V5 + Ab-V6. Dry mass accumulation and N content in the plant were evaluated. Total chlorophyll indices, stem height and diameter, N-fertilizer use efficiency and macro and micronutrient content in plants were also evaluated. Treatments T2, T5, T6, T7, T8, T9 and T10 were labeled with ¹⁵N to evaluate the efficiency of nitrogen fertilizer. The application of increasing doses of N-urea provided greater accumulation of dry mass and N content in the plant. Inoculation with MPCPs provided greater efficiency of N-fertilizer use, being in the Argisol the inoculation with Aprinza (89.6%) and in the Latosol with Ab-V5 + Ab-V6 (86%). Only the contents of K, Fe, Zn and Mn showed a significant response after inoculation with the inoculants Ab-V5 + Ab-V6, BiomaPhos, Aprinza and FMA Fungus. The chlorophyll content was significant in the Argisol when the plants were inoculated with BiomaPhos and in the Latosol only the inoculation with FMA Fungus was not beneficial. Inoculation with the FMA Fungus and BiomaPhos in the Latosol provided greater height to the corn plants. The stem diameter was positively influenced when the plants were inoculated with AbV5+AbV6 and SP245/*Herbaspirillum* (Latosol) and the inoculation with BiomaPhos and FMA Fungus provided greater stem diameter in the Argisol.

Keywords: Nitrogen. Bioinputs. Fertilization.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Preparo dos solos na casa de vegetação (A); Aplicação de solução de ^{15}N -ureia (B); Formação de agregado na superfície do solo úmido (C) e Solos alocados uniformemente nos vasos após adubação (D). Fonte: Acervo pessoal da Autora.	12
Figura 2. Semeadura (A) e inoculação das sementes de milho (B). Fonte: Acervo pessoal da Autora.	13
Figura 3. (A) Medições de diâmetro do colmo e (B) altura das plantas de milho. Fonte: Acervo pessoal da Autora.	14
Figura 4. Doses de 0 mg N Kg ⁻¹ ; 50 mg N Kg ⁻¹ ; 100 mg N Kg ⁻¹ e 150 mg N Kg ⁻¹ no desenvolvimento de plantas de milho cultivadas por 46 dias em (A) Argissolo e (B) Latossolo. Fonte: Acervo pessoal.	17
Figura 5. Efeito das doses de nitrogênio no crescimento das raízes das plantas de milho. (A) Argissolo; (B) Latossolo. Fonte: Acervo pessoal.	18
Figura 6. Massa seca acumulada em plantas de milho cultivada em Argissolo e Latossolo, sob diferentes doses de N, sem inoculação.	19
Figura 7. Teor de nitrogênio acumulado em plantas de milho cultivada em Argissolo e Latossolo, sob diferentes doses de N, sem inoculação.	20
Figura 8. Massa seca acumulada em plantas de milho cultivado em Argissolo e Latossolo, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento. Médias seguidas da mesma letra, dentro do mesmo solo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).	21
Figura 9. Nitrogênio acumulado em plantas de milho cultivada em Argissolo e Latossolo, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento. *Médias seguidas da mesma letra, dentro do mesmo solo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).	22
Figura 10. Altura de plantas de milho cultivada em Argissolo e Latossolo, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento. *Médias seguidas da mesma letra, dentro do mesmo solo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).	23
Figura 11. Diâmetro em plantas de milho cultivada em Argissolo e Latossolo, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento. *Médias seguidas da mesma letra, dentro do mesmo solo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).	24
Figura 12. Clorofila em plantas de milho cultivada em Argissolo e Latossolo, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento. *Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).	25
Figura 13. Eficiência de uso do N fertilizante em plantas de milho cultivadas em Argissolo e Latossolo, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento vegetal. *Médias seguidas pela mesma letra entre barras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey. (p < 0,05).	26

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos tratamentos utilizados em casa de vegetação.	10
Tabela 2. Composição da solução nutritiva de micronutrientes para vasos (Embrapa Agrobiologia).....	13
Tabela 3. Teores de macro e micronutrientes em plantas de milho cultivadas em solos inoculados com microrganismo promotores de crescimento vegetal.	27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 A Cultura do Milho no Brasil	3
2.2 Fertilizantes Nitrogenados	3
2.3 Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas (MPCP), na Cultura do Milho.....	4
2.3.1 <i>Azospirillum brasilense</i> (Ab -V5 + Ab – V6)	5
2.3.2 <i>Herbaspirillum seropedicae</i> + <i>Azospirillum baldaniorum</i> (SP245 + <i>Herbaspirillum seropedicae</i>	6
2.3.3 <i>Nitrospirillum amazonense</i> (Aprinza).....	7
2.3.4 <i>Bacillus subtilis</i> e <i>B. megaterium</i> (Biomaphos).....	7
2.3.5 <i>Rizophagus intraradices</i> (fungo micorrízico arbuscular - FMA)	8
2.4 Eficiência de Recuperação do ¹⁵ N-Uréia pelas Plantas	8
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1. Local, Organização do Estudo e Tratamentos	10
3.2 Adubação Nitrogenada	11
3.3 Inoculação das Sementes de Milho.....	13
3.4 Avaliação da Parte Aérea e de Raízes	13
3.5 Avaliações do Teor de Clorofila, Altura, Diâmetro do Colmo e Teores de Macro e Micronutrientes	14
3.6 Determinação da Eficiência de Recuperação do ¹⁵ N-ureia pelas Plantas	14
4. RESULTADOS	16
4.1 Acúmulo de Matéria Seca no Milho	16
4.2 Acúmulo de Nitrogênio no Milho.....	19
4.3. Resposta da Produção de Massa seca à Inoculação	20
4.4 Resposta do Acúmulo de Nitrogênio à Inoculação.....	21
4.5 Altura e Diâmetro do Colmo no Milho.....	22
4.6 Eficiência do Uso de N e Teores de Clorofila	24
4.7 Teores de Macro e Micronutrientes nas Folhas	26
5.DISSCUSSÃO	28
5.1 Resposta Agronômica de Doses Crescentes de N	28
5.2 Acúmulo de Nitrogênio sem Inoculação	28
5.3 Resposta Agronômica a Aplicação de Bioinsumos	29
5.3.1 Produção de massa seca	29
5.3.2 Resposta do acúmulo de nitrogênio à inoculação	29
5.3.3 Resposta em altura e diâmetro do colmo no milho	29
5.4 Resposta da Eficiência do Uso de N e Teores de Clorofila	30

5.4.1 Teor de clorofila.....	30
5.4.2 Eficiência de uso do nitrogênio após inoculação	30
5.5 Teores de Macro e Micronutrientes nas Folhas	31
6. CONCLUSÃO.....	33
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1. INTRODUÇÃO

A agricultura é uma atividade de grande importância para a economia brasileira. Entre os produtos gerados destaca-se a produção de alimentos, madeira e celulose, combustíveis, óleos e grãos para a alimentação. Com o crescimento populacional e o desenvolvimento industrial, a agricultura precisou ser expandida para acompanhar a demanda (OLISKOWSKI, 2021).

A cultura do milho tem grande relevância no agronegócio brasileiro e no atendimento a demanda mundial por alimentos, o que confere ao país a terceira posição em produção e segundo maior exportador a nível mundial (USDA, 2022). De modo geral, de acordo com Silva et al. (2020), o milho contribui diretamente com a cadeia produtiva e com o agronegócio, em decorrência da sua importância nutricional. As suas características permitem que apresente boa produtividade e adaptabilidade em diversas regiões do Brasil (Região Sul e Nordeste). Os maiores estados brasileiros produtores de milho são Mato Grosso (48.795 t), Paraná (14.995 t), Mato Grosso do Sul (11.994 t), Goiás (11.335 t) e Minas Gerais (6.126 t), pela produção da safra encerrada em 2023/24, nessa ordem. O estado do Rio de Janeiro também vem crescendo com uma produção de 6,8 t em produção total.

No milho, o nutriente mais aplicado é o nitrogênio e o suprimento inadequado desse elemento primordial é um dos maiores limitantes ao crescimento e no desenvolvimento da cultura (MENEZHINI et al., 2020). COELHO & FRANÇA (1995) mostraram que na produtividade de 3,65 Mg ha⁻¹ de grãos, são extraídos 77 kg de N e, na produtividade de 5,8 Mg ha⁻¹, a extração de N chega a 100 kg ha⁻¹, ou seja, uma extração total média pela planta de 20 kg N por tonelada de grão. Uma alternativa para diminuir os custos com a importação de fertilizantes nitrogenados seria aumentar a eficiência do uso de N-fertilizantes nitrogenados, e melhor, aumentar a contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN).

É importante ressaltar que os solos brasileiros apresentam geralmente baixa disponibilidade de N, sendo necessária a realização da adubação nitrogenada nas culturas agrícolas mais exigentes como o milho. Contudo, a eficiência da adubação depende de muitos fatores, como as condições climáticas, o tipo de solo e a capacidade de extração de nutrientes pelas plantas, durante o cultivo (NEUMANN et al., 2005; LORENZETTI et al., 2022).

Com isso, concomitantemente, aumentaram as áreas cultivadas, e o uso de fertilizantes e defensivos agrícolas. Essa atividade contribuiu para diversos problemas ambientais como a desregulação do clima e aumento do número de pragas e doenças resistentes aos pesticidas (CUNHA, 2015). Para que a agricultura se mantenha economicamente sustentável, é preciso estar em constante evolução, incorporando novas práticas que garantam uma produção sustentável, gerando lucro aos produtores sem prejudicar o meio ambiente e a saúde dos consumidores (DANTAS, 2019).

Considerando o elevado custo tanto econômico quanto ambiental no processo industrial de produção de N, aliado ao aumento da demanda por alimentos, surge a necessidade de se incorporar, à atividade agrícola, novas tecnologias que visem a diminuição do uso de fertilizantes nitrogenados. Uma opção é o aproveitamento dos benefícios proporcionados pela associação entre bactérias diazotróficas (fixadoras de N₂) promotoras do crescimento de plantas, fungos micorrizos arbusculares (FMAs) e culturas de interesse econômico, visto que tais microrganismos são capazes de promover o crescimento vegetal e gerar incrementos no desenvolvimento e na produtividade das culturas (BALDANI et al., 1997; MOTTA, 2007; FEILER, 2020).

Os benefícios da inoculação de microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP) tem sido verificado em diversas culturas como a soja, tomate e capim-mombaça,

especialmente devido ao efeito fitohormonal, que estimula diretamente a promoção de crescimento vegetal, desenvolvimento do sistema radicular, e consequentemente maior absorção de água e nutrientes (HUNGRIA et al., 2013; XIAO-YING et al., 2015; GALINDO et al., 2018). Assim, torna-se evidente a importância do uso de insumos biológicos na agricultura para atender à crescente demanda mundial por alimentos e outros produtos agrícolas, ao mesmo tempo que contribuem para uma produção rentável e sustentável, sem comprometer o meio ambiente.

A hipótese científica levantada no presente trabalho é que a inoculação com MPCPs na cultura do milho associada a utilização adequada de fertilizantes nitrogenados pode promover alterações no crescimento e no metabolismo vegetal, otimizando a eficiência de uso do N e ainda reduzir o uso de fertilizantes pela cultura.

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de cinco inoculantes formulados com microrganismos promotores de crescimento de plantas, associados à adubação nitrogenada, no crescimento e na eficiência da adubação nitrogenada em plantas de milho.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Cultura do Milho no Brasil

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta monocotiledônea, da família da família *Poacea*, cujo ciclo fenológico varia de 90 a 205 dias, dependendo do genótipo e do clima (FAGERIA, 1989; NORMAN et al., 1995; TOLLENAAR & DWYER, 1999). É uma planta C4, sendo bastante eficiente na assimilação de CO₂, apresentando altas taxas de fotossíntese líquida, mesmo em elevados níveis de luz.

O cultivo de milho é altamente dependente da disponibilidade do nitrogênio, no entanto, a maioria dos solos brasileiros possui baixa disponibilidade desse nutriente, tornando-se um fator limitante ao cultivo. Tal fato é agravado pela adoção de cultivos consecutivos, acelerando alta decomposição da matéria orgânica nas regiões tropicais e pelas perdas por lixiviação (ROCKENBACH et al., 2017; PEREIRA et al., 2019). Em média, para cada tonelada de grão colhida, são extraídos 17 kg ha⁻¹ de nitrogênio (COELHO et al., 2011).

Na evolução mundial de produção de milho, o Brasil é o terceiro maior produtor, superado apenas pelos Estados Unidos e pela China. No cenário nacional, no primeiro levantamento da safra de 2023/24 a produção interna foi de 131 milhões de toneladas com produtividade média de 5.923 kg ha⁻¹ cultivado em cerca de 22 milhões de hectares (CONAB, 2024).

Embora o milho seja uma importante cultura para o agronegócio brasileiro, quase todo seu efetivo de produção é consumido internamente, diferente da cultura da soja que concentra sua comercialização em mercados externos. O plantio de milho ocorre em duas épocas no Brasil. Devido a isso, para facilitar o acompanhamento conjuntural, determinou-se a época de plantio para a cultura sendo milho-safra ou primeira safra, o milho plantado de agosto a dezembro; e milho-safrinha ou segunda safra, plantado de janeiro a maio. O período mais expressivo para o plantio ocorre na primeira safra, mas o milho safrinha vem como alternativa viável de atividade econômica e de produto para o consumo próprio no período de outono-inverno.

A importância do milho está relacionada ao aspecto social, pois grande parte dos produtores brasileiros utiliza pouca tecnologia, não possui grandes extensões de terra, e cultiva para subsistência comercializando o excedente, o que reflete nas baixas produtividades médias, gerando uma dualidade na produção de milho, onde uma grande parcela de produtores que não estão envolvidos com a produção comercial e que atingem baixos índices de produtividade, e uma pequena parcela de produtores, mas com grandes extensões, com elevado índice de produtividade, com aplicação intensiva de tecnologia e elevado investimento de capital na produção de milho (DUARTE, 2004).

2.2 Fertilizantes Nitrogenados

Uma das práticas de manejo fundamentais para atingir altas produtividades de grãos na cultura do milho é a adubação nitrogenada. O N é o nutriente que afeta diretamente os componentes de rendimento e produtividade do milho, influenciando diversas características do crescimento e desenvolvimento (MOTA et al., 2015). Assim, uma das principais ferramentas no manejo da lavoura para obter altas produtividades é o uso de elevadas doses de fertilizantes nitrogenados.

A adubação nitrogenada em cobertura é uma prática comum na cultura do milho no Brasil (BATISTA et al., 2019; MORTATE et al., 2018). As fontes de nitrogênio (N) mais utilizadas são a ureia (45% de N) e o sulfato de amônio (20% de N). Entretanto, a melhor fonte varia conforme os diversos fatores, entre eles o tipo de manejo e as condições edafoclimáticas

locais (BESEN et al., 2018). Nas regiões produtoras de milho em Unaí Minas Gerais na 2ª safra de 2024 o custo com fertilizantes nitrogenados por hectare foi de R\$ 1.270,00 correspondendo a cerca de 21% dos custos totais de produção da cultura (CONAB, 2025).

Os fertilizantes nitrogenados vêm sendo utilizados em grandes quantidades, porém com baixa eficiência de aproveitamento pelas plantas. O alto custo desse insumo e os riscos de poluição ambiental tem sido considerado nos estudos, que buscam encontrar formas que viabilizem a redução da quantidade aplicada de nitrogênio (MORENO, KUSDRA e PICAZEVICZ, 2019). O N é um nutriente complexo, em razão da multiplicidade de reações químicas e biológicas a que está sujeito e da sua alta dependência das condições edafoclimáticas para a absorção pela planta (CANTARELLA e DUARTE, 2004). Apenas uma parte do N derivado do fertilizante sintético aplicado é absorvido pelas plantas. O restante tem vários destinos, uma parte significativa fica no solo e outra é perdida no sistema solo-planta-atmosfera por processos de lixiviação, volatilização, erosão e desnitrificação, tendo ainda uma fração que permanece no solo na forma orgânica (VARGAS, 2010).

Contudo, a eficiência relativamente baixa da absorção de fertilizantes inorgânicos, em torno de 50%, aliada ao aproveitamento variável da adubação nitrogenada no cereal, deve ser interpretada com cautela, pois o milho apresenta uma excelente resposta à adubação nitrogenada em condições favoráveis. (ALCANTARA et al., 2021; SCIVITTARO et al., 2000). A disponibilidade de N por meio de fertilizantes nitrogenados é um fator que gera um alto custo de produção, resultando para o agricultor em um alto investimento, porém nem sempre com a eficiência de uso desejada (ALCANTARA et al., 2021).

A complexidade das transformações do N no solo pode provocar variação entre a disponibilidade do nutriente no solo e a demanda pelas culturas. Dessa forma, a aplicação de N via fertilizantes minerais proporciona eficiência de aproximadamente 60%, sendo o restante perdido ou imobilizado temporariamente na biomassa microbiana do solo (BAYER e FONTOURA, 2006). A baixa eficiência de recuperação do N de fertilizantes nitrogenados aplicados nas culturas tem sido atribuída, principalmente, as perdas por volatilização de amônia (NH_3), oriunda das fontes amoniacais de N e a lixiviação de nitrato (NO_3^-) implicando em maior custo com fertilizantes e mão de obra (ROGERI, 2010).

O uso inadequado de fertilizantes também pode contribuir para a salinização dos solos, e contaminação dos rios, erosão superficial de partículas mais finas que são arrastadas pela água. O N é o elemento mais requerido pela planta em seu desenvolvimento, porém é facilmente perdido por volatilização e lixiviação no solo, sendo necessário na hora da aplicação fazer o parcelamento para reduzir as perdas. (VIEIRA, 2020). Porém, mesmo com o parcelamento, as perdas desse elemento para o ambiente são inevitáveis. O excesso de fertilizantes nitrogenados, além de causar danos ao ambiente, também aumenta o custo de produção e com isso diminuição da margem de lucro para agricultor (OLISKOWSKI, 2021). Dentre as maneiras de aumentar a eficiência de uso dos fertilizantes nitrogenados, se destaca o uso de microrganismos promotores de crescimento vegetal, que são tecnologias de fácil aplicação, baixo custo e que permitem reduzir a aplicação de insumos externos, sem afetar ou até aumentando a produtividade agrícola (TEIXEIRA FILHO; GALINDO, 2019).

2.3 Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas (MPCP), na Cultura do Milho

Os microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP) são um grupo de microrganismos benéficos às plantas que habitam o solo e colonizam a rizosfera e tecidos internos das plantas, incluindo, raízes, caules, folhas, frutos e sementes (BARBOSA et al., 2015). Existe uma grande diversidade de MPCP no solo que, quando associados às plantas, podem promover diversos benefícios como fixação biológica de nitrogênio (FBN), contribuindo para a nutrição nitrogenada de plantas, produção de fitohormônios, enzimas,

dentre outros compostos responsáveis por promover um maior desenvolvimento do sistema radicular e aéreo das plantas (OLISKOWSKI, 2021).

Diversos estudos vêm mostrando a possibilidade de viabilizar uma produção rentável, econômica e ecologicamente correta, com o uso do potencial genético das plantas, associado aos recursos biológicos do solo. O uso de insumos biológicos, como a inoculação de BPCP que tem a capacidade de fixar nitrogênio para as plantas, se torna uma boa alternativa, principalmente porque, além de favorecerem o crescimento das raízes, promovem também uma maior absorção de nutrientes e água pela planta (DOTTO et al., 2010; HUNGRIA et al., 2010; BHATTACHARYYA; JHA, 2012; ARAÚJO et al., 2016; VERONEZI et al., 2018).

Na agricultura, depois do *Rhizobium*, bactérias do gênero *Azospirillum* tem sido as mais estudadas devido a reconhecida ação promotora de crescimento em plantas. No Brasil, diversos trabalhos com inoculação de *Azospirillum*, incluindo estudos de co-inoculação bacteriana (BARBOSA et al., 2022; DOBEREINER e PEDROSA, 1987; HUNGRIA et al., 2010, 2013, OKON e LAVANDERA, 1994) vêm demonstrando o potencial desta bactéria na promoção do crescimento em culturas. Na cultura de milho, a que mais consome N-fertilizante no País, o estudo recente de BARBOSA et al. (2022), que avaliou por meio de meta-análise mais de 100 resultados experimentais obtidos em mais de 50 localidades sob diferentes condições edafoclimáticas durante o período de 2010 a 2021, demonstrou que o efeito positivo da inoculação (*A. brasilense*, Ab-V5 e Ab-V6) foi altamente influenciado pelo nível de produtividade de grãos da cultura. Para níveis de produtividade menores ou iguais a 3 Mg ha⁻¹, o ganho com a inoculação foi em média +21%, e para níveis de produtividade entre 3 e 12 Mg ha⁻¹, o aumento no rendimento variou + 1,5 a + 6,2%.

2.3.1 *Azospirillum brasilense* (Ab -V5 + Ab – V6)

Dentre os microrganismos fixadores de N encontrados em associações com gramíneas, as espécies do gênero *Azospirillum* constituem um dos grupos mais estudados, com diversas pesquisas sobre sua ecologia, fisiologia e genética (BALDANI et al., 1997; BASHAN; HOLGUIN, 2002). As estirpes Ab- V5 e Ab V6 possuem a característica de promover crescimento vegetal nas plantas através da produção de fitohormônios de crescimento, causando assim, modificações benéficas na morfologia do sistema radicular das plantas promovendo o desenvolvimento das plantas (ARSHAD e FRANKEBERGER, 1998; PEDROZA et al., 2011).

Além da capacidade de fixar N₂ atmosférico, quando em associação com gramíneas (STEENHOUDT, VANDERLEYDEN, 2000; ELMERICH; NEWTON, 2007), estas estirpes podem atuar na solubilização de fosfato inorgânico (RATTI et al., 2001). Em sua grande maioria são bactérias gram-negativas de vida livre, em forma de bastonete e flageladas, apresentando um movimento vibróide característico (QUADROS, 2009). Possuem metabolismo de carbono e nitrogênio bastante versátil, o que lhes confere competitividade durante o processo de colonização. As fontes de N preferenciais são amônia, nitrato, nitrito, aminoácidos e nitrogênio molecular. Quanto as fontes de C, as principais são ácidos orgânicos como malato, piruvato e succinato, havendo também uma preferência de frutose sobre glucose (TRENTINI, 2010).

O processo de simbiose de *Azospirillum* spp. na cultura do milho, possibilita aumentos de produtividade e diminuição nos custos de produção (OKON e VANDERLEYDEN, 1997). Ensaios desenvolvidos pela Embrapa Soja testando diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho demonstraram que a inoculação proporcionou incrementos de 24 a 30% no rendimento de grãos, da mesma cultura, em relação ao controle sem inoculação (HUNGRIA et al., 2010).

Lana et al. (2012) verificaram que mesmo sem a adição de N, houve incrementos de 7 a 15% na produtividade de grãos de milho inoculado com *Azospirillum*. Já Müller et al. (2016) observaram incrementos de até 2% na produtividade do milho inoculado com *Azospirillum brasilense* combinado com diferentes doses de N. Enquanto Zemrany et al. (2006), observaram que a inoculação de milho com *Azospirillum* promoveu maior crescimento de raízes e desenvolvimento das plantas no período vegetativo, mas não em rendimento de grãos.

Avaliando o impacto da inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas no rendimento de grãos, teor de proteína e recuperação de ^{15}N de ureia pelo milho em um Latossolo do Cerrado, Martins et al. (2018) constataram que a inoculação melhorou o rendimento de grãos em comparação com os tratamentos não inoculados e a fertilização com ^{15}N de ureia melhorou a qualidade dos grãos, proporcionando maior teor de proteína. Sendo que na maioria dos casos, onde se observa resposta positiva à inoculação com *Azospirillum* no milho, ocorre quando os níveis de rendimentos são abaixo da média nacional que atualmente está na ordem de 6T/ha.

2.3.2 *Herbaspirillum seropedicae* + *Azospirillum baldaniorum* (SP245 + *Herbaspirillum seropedicae*)

O *Herbaspirillum* é um outro gênero de bactéria diazotrófica que se destaca em pesquisas com milho (MONTEIRO et al., 2008). A espécie *Herbaspirillum seropedicae* foi descrita em 1986 como sendo uma bactéria diazotrófica endofítica, gram-negativa, geralmente vibróide, as vezes helicoidais membro da subdivisão β das Proteobactérias. Foi isolada de raízes lavadas e desinfestadas superficialmente de milho, sorgo e arroz (BALDANI et al., 1986).

Herbaspirillum seropedicae é a espécie que possui maior distribuição e ocorrência dentre as espécies diazotróficas endofíticas estudadas. Esta bactéria tem baixa sobrevivência, quando inoculada em solo natural ou esterilizado e monitorado por contagem em meio JNFb semi-sólido (OLIVARES et al., 1996). Esta espécie possui a capacidade de se associar a uma grande variedade de plantas, em especial as gramíneas.

A bactéria *H. seropedicae* é um microrganismo promotor de crescimento vegetal que além de realizar o processo de FBN, possuem a habilidade de estimular o crescimento vegetal com a produção de hormônios de crescimento como auxinas e giberelinas, que promovem o crescimento radicular dos vegetais (DOBBELAERE et al. 1999; LAMBRECHT et al. 2000).

No Brasil, o uso de inoculantes na cultura do milho chega a 22% de área plantada, com avanço gradual safra a safra (ANPII, 2024), onde os inoculantes comerciais contém as estirpes de *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6, recomendadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) tanto para milho quanto para trigo (HUNGRIA et al., 2010). No entanto, uma estirpe de *Azospirillum* mais bem estudada é a Sp245, embora tenha sido identificada como estirpe de *A. brasilense* foi recentemente classificada a nível de espécie como *A. baldaniorum*, sendo uma nova espécie de gênero, considerada referência para a investigação de mecanismos de promoção de crescimento vegetal (SOMERS et al., 2005; FERREIRA et al., 2020). É uma estirpe bem descrita, tendo sido isolada de plantas de trigo no sul do Brasil por BALDANI et al. (1986a).

A estirpe Sp245 de *Azospirillum*, originalmente identificada como *A. brasilense* foi recentemente reclassificada como *A. baldaniorum*, é considerada uma linhagem tipo para esta espécie (CASSÁN & DIAZ-ZORITA, 2016; FERREIRA et al., 2020) e foi isolada a partir de raízes de trigo esterilizada superficialmente na região sul do Brasil (BALDANI et al., 1986b). É amplamente utilizada na pesquisa de processos de interação entre planta-bactéria visando a sua elucidação.

2.3.3 *Nitrospirillum amazonense* (Aprinza)

O inoculante microbiológico de nome comercial Aprinza foi lançado em 2018 em uma parceria da Embrapa Agrobiologia com a empresa Basf. Esse inoculante foi desenvolvido a partir da bactéria *Nitrospirillum amazonense* que é conhecida por ser uma bactéria fixadora de nitrogênio e promotora de crescimento vegetal (MATOSO, 2020).

A espécie *Nitrospirillum amazonense*, anteriormente pertencente ao gênero *Azospirillum amazonense*, é uma bactéria fixadora de nitrogênio, onde tem sido demonstrado que bactérias endofíticas não patogênicas podem estimular o crescimento, além de contribuir para a nutrição de seu hospedeiro (LIN et al., 2014). Foi inicialmente isolada de gramíneas forrageiras cultivadas na Amazônia e no estado do Rio de Janeiro. Posteriormente, também foi isolada de plantas de arroz, milho e sorgo cultivadas em Seropédica/RJ, além de cana-de-açúcar no Havaí e na Tailândia (TERRA, 2015). Estudos relatam que a inoculação com *N. amazonense* estirpe CBAmC tem o potencial de promover o crescimento e aumentar a produtividade vegetal (TERRA et al., 2015).

Avaliando a performance agrônômica da cana-de-açúcar submetida à inoculação com *Nitrospirillum amazonense* Reis et al. (2020), constataram que após a aplicação em dois experimentos de produto a base de *N. amazonense* houve melhorias nos parâmetros de crescimento das plantas de cana de açúcar e esses benefícios resultaram em aumento significativo de produtividade e na quantidade de açúcar por hectare.

2.3.4 *Bacillus subtilis* e *B. megaterium* (Biomaphos)

O Biomaphos é um produto comercial que contém as cepas *Bacillus subtilis* e *B. megaterium* que são microrganismos solubilizadores de fosfato. Em avaliações realizadas em áreas de produção de milho, onde as adubações com fósforo foram aplicadas conforme recomendação local, a aplicação do produto resultou em ganho médio de produtividade de milho de 8,9% (OLIVEIRA et al., 2020).

A espécie *Bacillus subtilis* é uma bactéria Gram-positiva, saprófita, podendo ser encontrada tanto em contato com a água, como, com o solo. O crescimento em plantas é proporcionado pela capacidade de as bactérias aumentarem a fixação de nitrogênio quando em simbiose com a planta, bem como, solubilização de nutrientes, síntese de fito-hormônios e melhoria da rizosfera, além de defesas contra organismos patogênicos (LANCELLOTTI, 2016).

Segundo Manjula e Podile, 2005, a promoção do crescimento que ocorre devido a ação de *B. subtilis* ocorre pelo aumento da fixação biológica de nitrogênio, solubilização de nutrientes, síntese de fitohormônios e as condições do solo. Além desses aspectos, há os benefícios indiretos causados pela supressão do ambiente de microrganismos patogênicos, esta associação benéfica também provoca o aumento fisiológico de metabólitos que, por sua vez, facilitará a percepção e absorção de nutrientes, pois podem desencadear a sensibilidade do sistema radicular as condições extremas.

Já a espécie de *Bacillus megaterium* é uma bactéria Gram-positiva, aeróbia, que produz esporos, sendo encontrada em diversos habitats. O gênero possui resistência a condições de elevadas temperaturas e pressão osmótica, o que facilita sua utilização nos mais variados processos (WU et al, 2001; VARY et al, 2007; PANDIAN et al, 2010). Essa bactéria atua na solubilização do fosforo e apresenta outros mecanismos que auxiliam o crescimento, como a solubilização de potássio, produção de fito-hormônios, enzimas, bioproteção contra patógenos, e por meio de mecanismos secundários, aumentam a absorção de outros nutrientes e água pelo estímulo ao sistema radicular (GUPTA et.al, 2015).

2.3.5 *Rizophagus intraradices* (fungo micorrízico arbuscular - FMA)

Além de estudos com as bactérias, também existem diversas pesquisas com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) solubilizadores de fosfato (FSP) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) com intuito de solubilizar fosfatos existentes ou adicionados ao solo e/ou aumentar a absorção de nutrientes devido à expansão na área de exploração do solo, incrementando o desenvolvimento das plantas (COUTINHO et al., 2017).

No mercado de inoculantes brasileiro, existe um inoculante comercial composto por FMA registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) – Rootella BR sob nº 22902 10000-0 0 (STOFFEL et al., 2020). Este inoculante contém o FMA *Rhizoglomus intraradices* (*Rhizophagus intraradices*). Existe uma lista de plantas beneficiadas pela associação com *R. intraradices* como milho (GUO et al., 2014), soja (SPAGNOLETTI & LAVADO, 2015), feijão (TAJINI et al., 2012), trigo (ARDAKANI et al., 2011) e algodão (ORAK & DEMIR, 2011).

Os FMAs formam associações mutualísticas com as raízes da maioria das plantas. Essa associação é caracterizada pelo crescimento intercelular de hifas no tecido cortical da planta e pela diferenciação de hifas intercelulares terminais em estruturas efêmeras e semelhantes a haustórios, chamadas arbúsculos (BENEDETI et al., 2005). Assim, o conhecimento da ecologia dos FMA e população de FMAs e sua simbiose é de grande importância quando se deseja manejar as populações nativas para obter-se o máximo do potencial das espécies micorrízicas em benefício de espécies vegetais (ANTONIOLLI et al., 2002).

Avaliando o rendimento dos grãos em milho inoculado com *Rizophagus intraradices* MARCHIORO. (2023), verificou que o tratamento micorrizado com essa espécie aumentou 26% em relação ao tratamento controle 0% N (não inoculado e sem aplicação de N). Estudando micorrização na cultura do milho BUZO (2021) também observou que a inoculação com *R. intraradices* beneficiou o desenvolvimento das plantas de milho e o acúmulo de alguns nutrientes na parte aérea, com potencial para proporcionar melhor aproveitamento da adubação fosfatada e incrementar a produtividade da cultura.

2.4 Eficiência de Recuperação do ^{15}N -Uréia pelas Plantas

Átomos que possuem o mesmo número de prótons e diferente números de nêutrons são chamados de isótopos do elemento. Os isótopos estáveis do elemento são aqueles que não emitem radiação e ocorrem na natureza em proporções quase constantes. Os valores podem ser expressos por abundância ou concentração isotópica (% em átomos do isótopo; $^{14}\text{N} = 99,6337\%$ e $^{15}\text{N} = 0,3663$) e significam a porcentagem de um isótopo em relação a todos do que ocorrem naturalmente (TRIVELIN, 2004).

Atualmente a técnica mais utilizada para se determinar o destino de N-fertilizante nos diversos agroecossistemas em que se cultiva o milho é a do isótopo ^{15}N . O emprego deste isótopo visa determinar a eficiência de utilização do fertilizante nitrogenado (EUFN) na cultura do milho em várias localizações geográficas e condições climáticas, porém dos vários resultados obtidos verifica-se que há uma grande variação na determinação da EUFN pela cultura do milho, variando de 10 a 65% do N aplicado (KITUR et al., 1984; TIMMONS; CRUSE, 1990; TIMMONS; BAKER, 1991; TIMMONS; BAKER, 1992; LARACABEZAS et al., 2000; CANTARELLA et al., 2003; SILVA et al., 2003; GAVA et al., 2006).

Esses isótopos presentes na natureza podem ser usados na pesquisa agrícola por meio da marcação ou enriquecimento ou então por meio de medidas das variações da abundância isotópica natural (REENIE; PAUL; JOHNS, 1976; TRIVELIN, 1976;). Esta tecnologia permite avaliar a eficiência de recuperação do N que foi aplicado via fertilizante, possibilitando distinguir a origem do elemento assimilado pela planta e a partição do mesmo pelas partes da

planta após ser absorvido (ANDREUCCI, 2007). As concentrações finais de ^{15}N encontrados na planta variam de acordo com a abundância isotópica do solo e da variação causada pela adubação (RINALDI, 2018).

Com tudo, o método isotópico pode ser influenciado pelos fracionamentos ocorridos durante o ciclo do N, podendo haver segregação ou até mesmo efeito de diluição entre as formas isotópicas de ^{14}N e ^{15}N durante os processos de fixação, volatilização, nitrificação, desnitrificação, imobilização (“*pool substitution*”) e assimilação de N pelas plantas. A não contabilização desses processos pode levar a uma avaliação errônea dos valores finais de recuperação de ^{15}N (DELWICHE & STEYN, 1970; YONEYAMA, 1996).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local, Organização do Estudo e Tratamentos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Embrapa Agrobiologia, localizada no município de Seropédica – RJ (latitude 22° 45' S, longitude 43°) no período de 18 de maio a 2 de junho de 2023, durante o final da estação de outono e início do inverno. Com temperatura média diária de 27°C e umidade relativa do ar em torno de 76%. Foram utilizados dois tipos de solos, um Latossolo procedente de Sete Lagoas (Minas Gerais) e um Argissolo da área experimental do Terraço da Embrapa Agrobiologia, apresentando as seguintes características químicas: pH = 5,77 e 5,87; Ca = 4,5 e 4,05 cmolc dm⁻³; H + Al = 8,68 e 2,48 cmolc dm⁻³; K = 45,81 e 96,11 mg L⁻¹; Mg = 1,07 e 1,42 cmolc dm⁻³; P = 63,65 e 37,96 mg L⁻¹ e com uma saturação de bases de 85 e 97 %, respectivamente.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com 10 tratamentos e 5 repetições, para cada tipo de solo (Argissolo e Latossolo), totalizando 100 unidades experimentais. Os dois solos utilizados estavam sendo destinados ao pousio, sem cultivos anteriores.

Os tratamentos foram compostos da combinação de diferentes doses de N e tipos de inoculantes. As doses de N foram; 0, 50 e 100 e 150 mg N/kg de solo e os inoculantes foram: BioMa Mais = Ab- V5 + Ab – V6 (*Azospirillum brasilense* - 4x10⁸ UFC/mL); Biomaphos = CNPMS B2084 e CNPMS 8119 (*Bacillus subtilis* + *Bacillus megaterium* - 4x10⁹ UFC/mL); Aprinza = BR 11145 (*Nitrospirillum amazonense* - 1 X 10⁸ UFC mL⁻¹); Fungo micorrízico arbuscular (FMA) = FMA-Rootella – produto não comercial desenvolvido por CNPAB- (*Rizopagus intraradices* - 1,67x10⁵ UFC mL⁻¹) e Mistura Z-94 e SP245 = Z-94 + SP245 + *Herbaspirillum* - desenvolvido por CNPAB- (*Herbaspirillum seropedicae* + *Azospirillum baldaniorum* - 9,5 x 10⁸ + 2,5 x 10⁹ UFC mL⁻¹), representados na Tabela abaixo:

Tabela 1. Descrição dos tratamentos utilizados em casa de vegetação.

Tratamentos	Doses de N	Inoculante
T1	–	–
T2	50 mg N kg solo ⁻¹	–
T3	100 mg N kg solo ⁻¹	–
T4	150 mg N kg solo ⁻¹	–
T5	50 mg N kg solo ⁻¹	Ab-V5 + Ab-V6
T6	50 mg N kg solo ⁻¹	Biomaphos
T7	50 mg N kg solo ⁻¹	Aprinza
T8	50 mg N kg solo ⁻¹	Fungo micorrízico arbuscular (FMA)
T9	50 mg N kg solo ⁻¹	SP245 + <i>Herbaspirillum</i>
T10	100 mg N kg solo ⁻¹	Ab-V5 + Ab-V6

Cada unidade experimental foi constituída de vasos com 6 kg de solo, terra fina seca ao ar (TFSA). A cultivar de milho utilizada foi a AG8740PRO3, sendo semeadas 4 sementes de milho por unidade experimental. Após 8 dias da germinação as plantas foram desbastadas seguindo o experimento com 2 plantas por vaso. Todos os tratamentos foram avaliados em dois tipos de solo.

3.2 Adubação Nitrogenada

A adubação nitrogenada foi realizada nas doses de 50, 100 e 150 mg N/ kg solo⁻¹, 7 dias antes da semeadura, para ajudar definir a curva de resposta a N pela cultura em ambos os solos. O isótopo de ¹⁵N foi utilizado com o intuito de avaliar a eficiência do uso do fertilizante nitrogenado aplicado.

Os tratamentos T2; T5; T6, T7, T8, T9 e T10 tiveram como fonte de N, a uréia marcada com ¹⁵N, e os tratamentos T3 e T4 foram adubados com ureia não marcada. O tratamento T1 foi a testemunha absoluta. Foi preparada uma solução de 500ml contendo (33,33g de ¹⁵N de ureia marcada com 1% átomos ¹⁵N exc). Para o preparo desta solução, foram pesados 3,46g de ureia com 9,6337% ¹⁵N exc e adicionado ao frasco 29,87g de ureia não marcada. Desta solução, foi aplicado 10ml com auxílio de pipeta volumétrica nos vasos que receberam os tratamentos correspondentes a 50 mg N/vaso. Primeiramente foi realizada a aplicação no N não marcado nos tratamentos correspondentes, seguida das aplicações nos tratamentos com ¹⁵N marcado, para evitar contaminação e na ordem de menor para maior dose.

Nos tratamentos que receberam 100 mg N/kg foi aplicada 20 ml da solução por vaso. Após a aplicação da solução na superfície do solo, a parte umedecida foi coberta para ajudar na secagem da parte úmida (Figura 1). Após a secagem, todo o volume do solo foi misturado uniformemente e nesse momento se realizou a aplicação dos fertilizantes de plantio. Todos os tratamentos receberam o equivalente a 50mg/kg solo de P₂O₅ e K₂O, respectivamente. Como fontes de nutrientes foi aplicado superfosfato simples (SS) (20% P₂O₅) e sulfato de potássio (50% K₂O), correspondendo a 1,5g de superfosfato simples, 50 mg kg⁻¹ de K₂O correspondendo a 0,6g de sulfato de potássio e 0,6g de micronutrientes (FTE). Aos 28 dias após a semeadura (DAS), foi aplicada 10 ml por vaso de solução nutritiva de micronutrientes (Embrapa Agrobiologia) (Figura 1) para suprir deficiências de magnésio e manganês no milho.



(A)



(B)



(C)



(D)

Figura 1. Preparo dos solos na casa de vegetação (A); Aplicação de solução de ^{15}N -ureia (B); Formação de agregado na superfície do solo úmido (C) e Solos alocados uniformemente nos vasos após adubação (D). Fonte: Acervo pessoal da Autora.

Tabela 2. Composição da solução nutritiva de micronutrientes para vasos (Embrapa Agrobiologia).

Nutriente	Quantidade
MgSO ₄ . 7H ₂ O	150g
CuSO ₄ . 5H ₂ O	15,8g
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	8,908g
H ₃ BO ₃	0,3g
NaMoO ₄ . 2H ₂ O	0,5g
FeSO ₄ . 7H ₂ O	20g
Ácido cítrico	20g

3.3 Inoculação das Sementes de Milho

A inoculação das sementes de milho foi realizada logo após a semeadura com auxílio de uma pipeta volumétrica, onde foi aplicado 50 µl dos inoculantes diretamente sobre a semente no vaso (Figura 2).

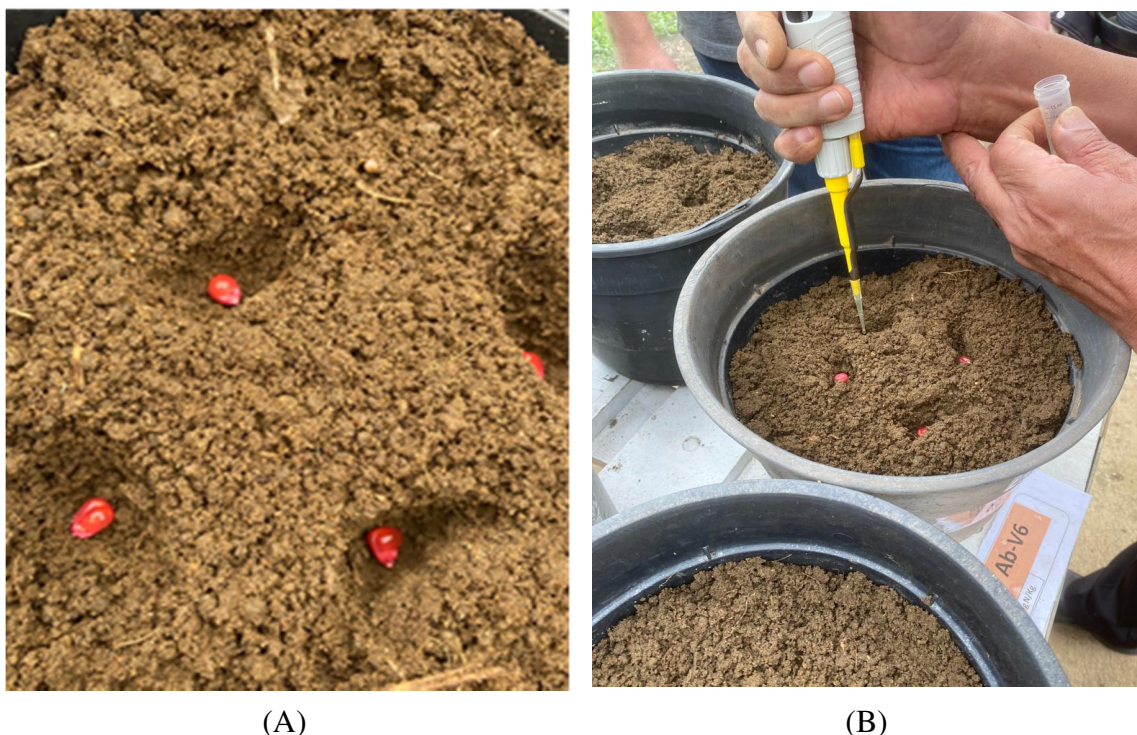


Figura 2. Semeadura (A) e inoculação das sementes de milho (B). Fonte: Acervo pessoal da Autora.

3.4 Avaliação da Parte Aérea e de Raízes

Aos 42 DAS realizou-se a coleta da parte aérea (corte na altura do colo) e raízes das plantas de milho cultivadas sob Argissolo, e aos 46 DAS sob as plantas cultivadas no Latossolo. Separou-se a parte aérea das raízes. As raízes foram separadas do solo com auxílio de peneiras para que não houvesse perdas de raízes finas. Todo o material vegetal (separado entre parte aérea e raízes) foi colocado em sacos de papel e transferido para a estufa de circulação forçada de ar a uma temperatura de 65°C por 72 horas até atingir peso constante.

Após a secagem foi determinado o peso da matéria seca (MS) de cada amostra para a estimativa da produção de biomassa de cada tratamento. As amostras foram pesadas em balança digital de precisão.

3.5 Avaliações do Teor de Clorofila, Altura, Diâmetro do Colmo e Teores de Macro e Micronutrientes

Foi verificado o teor de clorofila total das plantas, com auxílio do aparelho clorofilog FALKER. As medições foram realizadas na quarta folha desenvolvida. A medição da altura das plantas foi feita aos 15, 30 e 45 dias após a emergência das plantas (DAE), com auxílio de régua. A medição da altura nos 30 e 45 dias foi feita com fita métrica devido ao maior tamanho das plantas. A medição do diâmetro do colmo foi feita com paquímetro digital a 10 cm do solo (Figura 3).

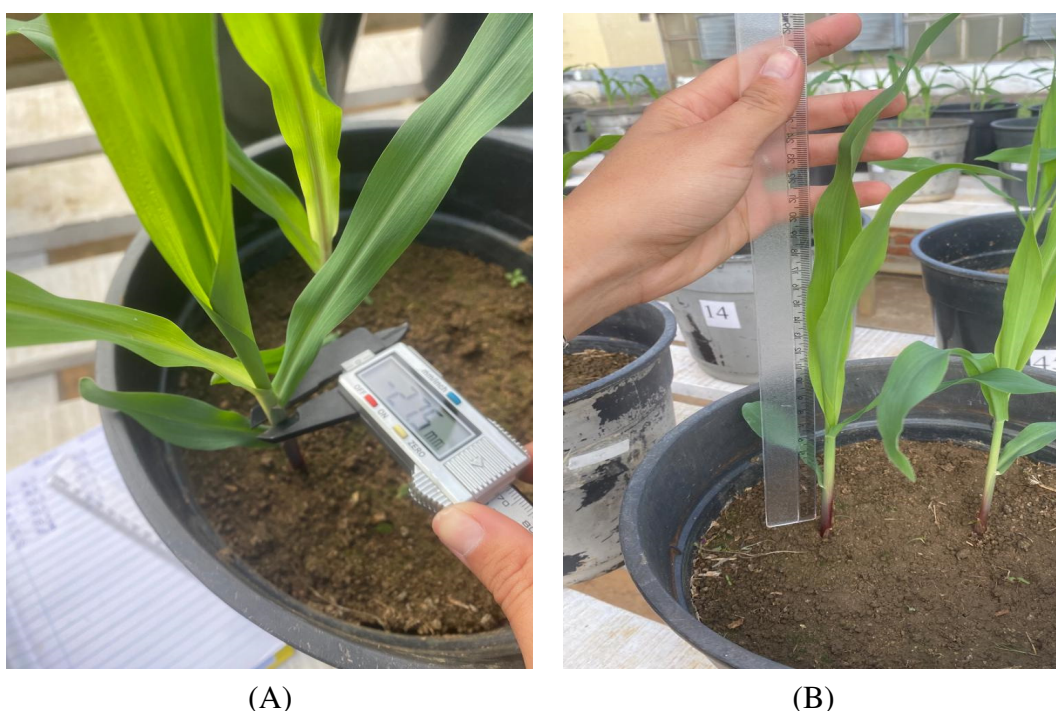


Figura 3. (A) Medições de diâmetro do colmo e (B) altura das plantas de milho. Fonte: Acervo pessoal da Autora.

Para a determinação dos teores de macro e micronutrientes pelas plantas as amostras já secas foram processadas em moinho de facas tipo Willey (peneiras de 2 mm), para realizar as análises de P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn e Zn e em seguida foram encaminhadas ao laboratório da Embrapa Agrobiologia.

3.6 Determinação da Eficiência de Recuperação do ^{15}N -ureia pelas Plantas

Para a determinação da eficiência de recuperação do ^{15}N -ureia pelas plantas, as amostras já secas foram processadas em moinho de faca tipo Wiley (peneiras de 2 mm) e posteriormente em moinho de rolos até formar pó.

Em seguida, com as amostras parte aérea e raízes já secas e moídas foram encaminhadas ao laboratório “John Day” de isótopos estáveis do CNPAB para análises de determinação do N total e análises do ^{15}N nos tecidos da planta em um analisador elementar CHNS-O (Modelo

ECS 4010, Costech Analytical Technologies Inc., Valencia, USA), acoplado a um espectrômetro de massas de razão isotópica (Modelo Delta V, Thermo Scientific, Bremen, Alemanha).

A recuperação de N-fertilizante foi avaliada com a finalidade de verificar o efeito da inoculação na eficiência de uso do N-fertilizante. Com os valores de % átomos de ^{15}N em excesso, são determinados o N derivado do fertilizante (% Nddf), que são calculados segundo procedimento descrito pela Agência Internacional de Energia Atômica – IAEA (2001):

$$\%Nddf = \frac{\text{Átomos de } N^{15} \text{ excesso}_{\text{amostra vegetal}}}{\text{Átomos } N^{15} \text{ excesso}_{\text{fertilizante}}} \times 100$$

Com o valor de % Nddf, o teor de N na amostra vegetal (% N) e a massa seca das plantas (MSP) por vaso, foi possível calcular a quantidade de N derivada do fertilizante (QNDDF), em g por vaso, da seguinte forma:

$$QNDDF = MSP \times \frac{\%N}{100} \times \frac{\%Nddf}{100}$$

Dessa forma, a eficiência de uso do N-fertilizante pelas plantas (EUN%) foi calculada da seguinte forma:

$$EUN\% = \frac{QNDDF}{\text{Quantidade de N aplicado por vaso}} \times 100$$

Os resultados foram submetidos à análise de variância, aplicando-se o teste F para significância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS

4.1 Acúmulo de Matéria Seca no Milho

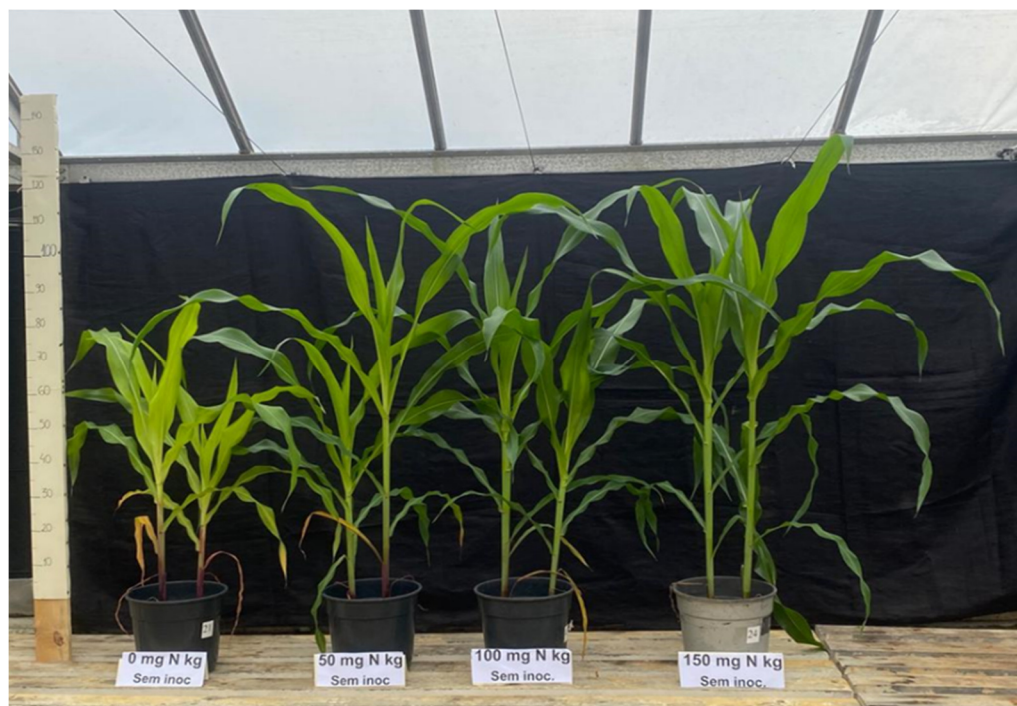
As doses crescentes de N aplicadas na cultura do milho apresentaram efeito significativo para teor de matéria seca e acúmulo de nitrogênio em ambos os solos. A Figura 4 apresenta o efeito das doses 0; 50; 100 e 150 mg N Kg⁻¹ no desenvolvimento das plantas milho cultivadas aos 42 dias após a semeadura (DAS) em Argissolo e 46 DAS em Latossolo. As maiores doses (100 e 150 mg N Kg⁻¹) proporcionaram visualmente maior acúmulo de massa seca em relação a menor dose 50 mg N Kg⁻¹ e da testemunha absoluta.

Em relação ao crescimento das raízes (Figura 5), as doses crescentes de N proporcionaram efeito significativo no crescimento das raízes das plantas de milho, porém não visualmente.

A aplicação de doses de nitrogênio nas plantas de milho, promoveu crescimento quadrático para a massa seca, e linear para nitrogênio acumulado para os dois solos. Verifica-se que com o aumento da adubação nitrogenada ocorreu um aumento quadrático da massa seca, tanto para Argissolo como para Latossolo (Figura 6).

Para as plantas cultivadas no Argissolo, as doses de nitrogênio equivalentes à 0, 50, 100 e 150 mg N kg⁻¹ de solo resultaram em valores médios de massa seca de plantas de 31,7; 44,0; 47,6 e 49,8 g vaso⁻¹, respectivamente. Já as plantas cultivadas em Latossolo, os valores de massa seca foram de 44,5; 62,3; 72,9 e 75,8 g vaso⁻¹, respectivamente. Maiores valores de massa seca das plantas foram correspondentes à dose 150 mg N kg⁻¹ de solo, porém não diferindo estatisticamente da dose 100 mg N kg⁻¹ solo em ambos os solos avaliados. Contudo, em ambos os solos se observa que o acúmulo de massa seca foi baixa no início do ciclo, teve aumento significativo até atingir um patamar no qual passou a acumular em uma taxa bem mais baixa. Esse comportamento indica que, do ponto de vista econômico, a dose mais eficiente de nitrogênio seria a dose de 100 mg N kg⁻¹ de solo, por promover bom desempenho produtivo com menor investimento em insumo.

A

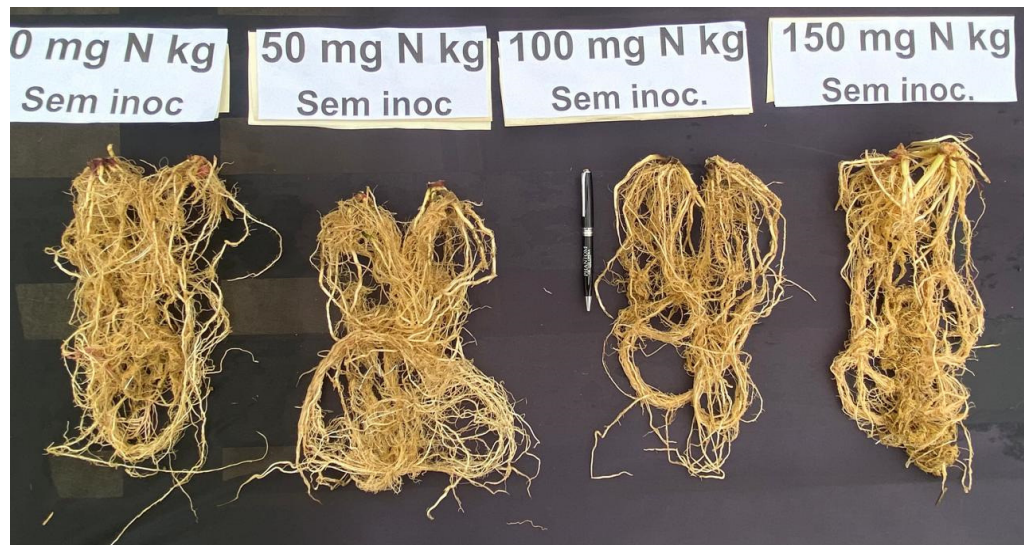


B



Figura 4. Doses de 0 mg N Kg⁻¹; 50 mg N Kg⁻¹; 100 mg N Kg⁻¹ e 150 mg N Kg⁻¹ no desenvolvimento de plantas de milho cultivadas por 46 dias em (A) Argissolo e (B) Latossolo. Fonte: Acervo pessoal.

A



B



Figura 5. Efeito das doses de nitrogênio no crescimento das raízes das plantas de milho. (A) Argissolo; (B) Latossolo. Fonte: Acervo pessoal.

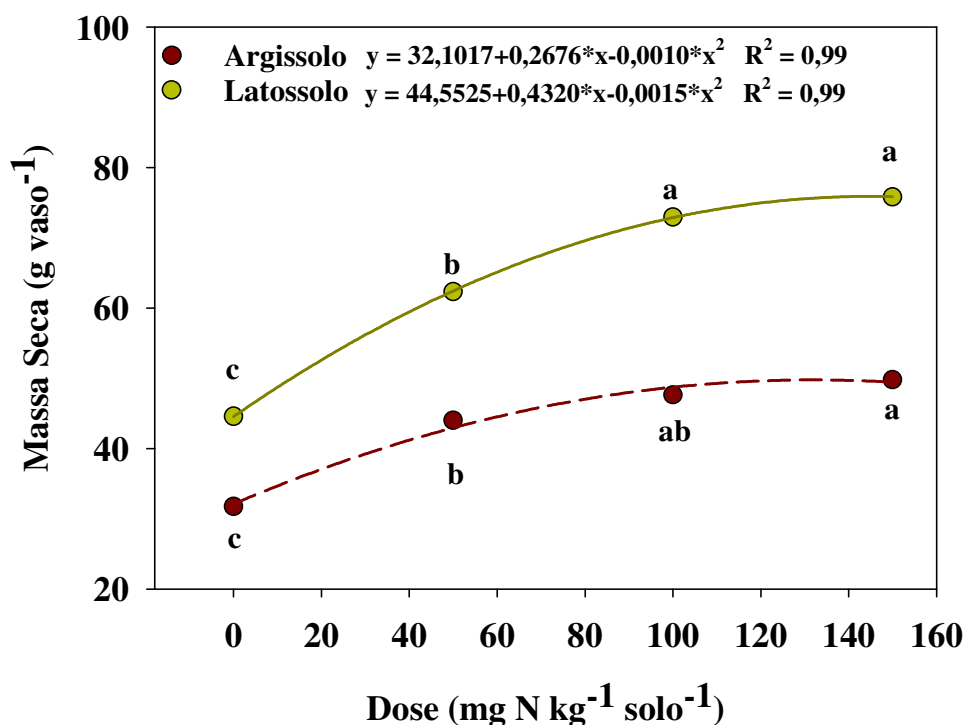


Figura 6. Massa seca acumulada em plantas de milho cultivada em Argissolo e Latossolo, sob diferentes doses de N, sem inoculação.

4.2 Acúmulo de Nitrogênio no Milho

No que se refere ao acúmulo de nitrogênio na parte aérea e nas raízes (Figura 7), para as plantas de milho cultivadas em Argissolo, este ocorreu de forma linear, onde as maiores doses de nitrogênio (100 e 150 mg N kg⁻¹ solo⁻¹) proporcionaram um maior acúmulo de nitrogênio (0,632 e 0,846 g N vaso⁻¹), diferindo estatisticamente entre as demais doses de 0 e 50 mg N kg⁻¹ solo⁻¹ com (0,211; 0,481 g N vaso⁻¹), respectivamente. Houve um aumento em torno de 300 % no acúmulo de nitrogênio da testemunha em relação a maior dose.

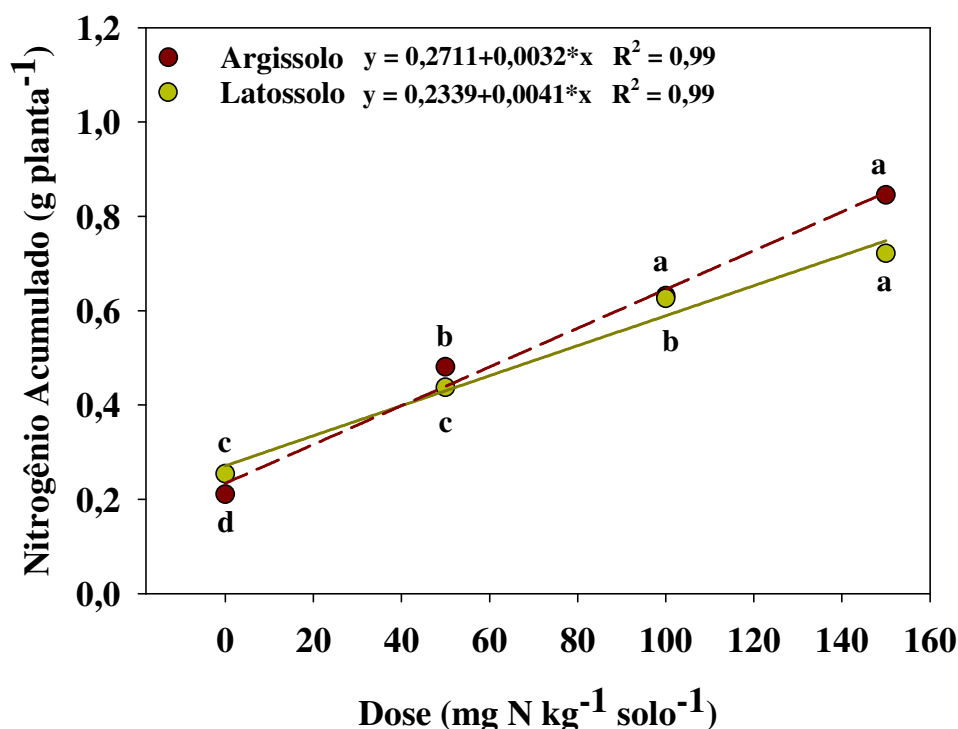


Figura 7. Teor de nitrogênio acumulado em plantas de milho cultivada em Argissolo e Latossolo, sob diferentes doses de N, sem inoculação.

Para as plantas de milho cultivadas em Latossolo, as maiores doses de nitrogênio aplicadas 100 e 150 mg N kg⁻¹ solo⁻¹, proporcionaram maior acúmulo de nitrogênio com 0,626 e 0,722 g N vaso⁻¹, respectivamente, diferindo estatisticamente das demais doses. As menores doses de nitrogênio 0 e 50 mg N kg⁻¹ solo⁻¹ proporcionaram acúmulo de nitrogênio (0,254 e 0,437 g N vaso⁻¹), respectivamente e não diferindo estatisticamente entre si. Houve um aumento em torno de 184% no acúmulo de nitrogênio da menor dose em relação a maior dose. Porém, é importante salientar que o aumento no acúmulo de N nas plantas de milho da dose 100 mg N para 150 mg N foi pequena, evidenciando que o acúmulo de N na planta atinge seu pico nas maiores doses, entretanto, a partir de doses muito elevadas esse incremento parece diminuir.

Diante dos resultados das doses de nitrogênio, considerou-se adequado que as avaliações dos inoculantes dos MPCPs fossem realizadas com a dose de 50 mg N kg⁻¹ solo⁻¹, uma vez que quando as plantas recebem doses menores de N do solo, elas tendem a estimular uma maior atividade e eficiência destes microrganismos, resultando em melhores respostas das plantas a esses inoculantes (GILLER, 2001; CARGNELUTTI et al., 2021).

4.3. Resposta da Produção de Massa seca à Inoculação

Em relação a inoculação com o uso dos MPCPs, houve diferença significativa entre os tratamentos, para todos os parâmetros avaliados.

Os maiores valores de massa seca (Figura 8) foram encontradas nas plantas cultivadas em Latossolo. Neste solo a maioria dos tratamentos foram similares à testemunha, e no caso a Biomaphos o inoculante diminuiu o crescimento da planta.

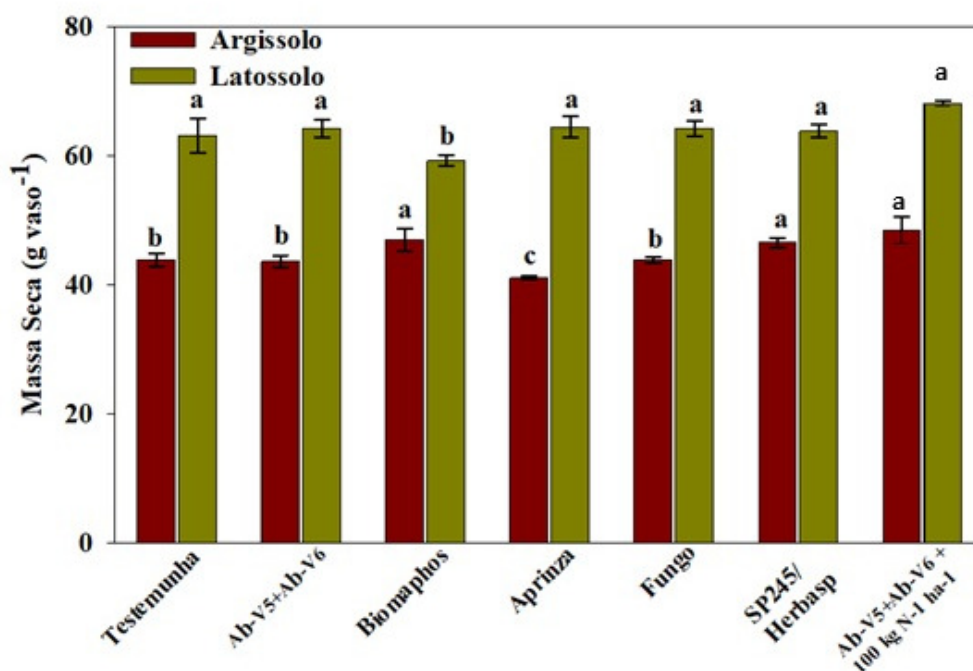


Figura 8. Massa seca acumulada em plantas de milho cultivado em Argissolo e Latossolo, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento. Médias seguidas da mesma letra, dentro do mesmo solo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Em relação ao acúmulo de massa seca pelas plantas cultivadas em Argissolo, somente alguns tratamentos como BiomaPhos ($46,9 \text{ g vaso}^{-1}$), inoculação com SP245 + *Herbaspirillum* com ($46,4 \text{ g vaso}^{-1}$) e o FMA com ($43,83 \text{ g vaso}^{-1}$), superaram a testemunha ($43,84 \text{ g vaso}^{-1}$). Neste solo, o inoculante Aprinza diminuiu o crescimento da planta.

4.4 Resposta do Acúmulo de Nitrogênio à Inoculação

Quanto ao nitrogênio acumulado na planta (Figura 9), nas plantas cultivadas em Argissolo, o maior teor de N foi encontrado quando as plantas foram inoculadas com o inoculante Aprinza ($0,567 \text{ g N vaso}^{-1}$), seguido pela inoculação com Ab-V5 + Ab-V6 e BiomaPhos com ($0,564 \text{ g N vaso}^{-1}$), SP245 + *Herbaspirillum* ($0,517 \text{ g N vaso}^{-1}$), controle ($0,421 \text{ g N vaso}^{-1}$) e a inoculação com FMA com o menor acúmulo de N ($0,475 \text{ g N vaso}^{-1}$). Onde a inoculação com Aprinza e Ab-V5 + Ab-V6 apresentaram diferença estatística entre os demais tratamentos.

No Latossolo, a inoculação com Ab-V5 + Ab-V6 e BiomaPhos proporcionaram um maior acúmulo de N, ambos com ($0,555 \text{ g N vaso}^{-1}$), seguido pela inoculação das plantas com Aprinza ($0,487 \text{ g N vaso}^{-1}$), FMA ($0,467 \text{ g N vaso}^{-1}$), SP245 + *Herbaspirillum* ($0,444 \text{ g N vaso}^{-1}$) e o controle com o menor acúmulo de N ($0,462 \text{ g N vaso}^{-1}$). O tratamento inoculado com Ab-V5 + Ab-V6 foi o único que apresentou diferença estatística entre os demais.

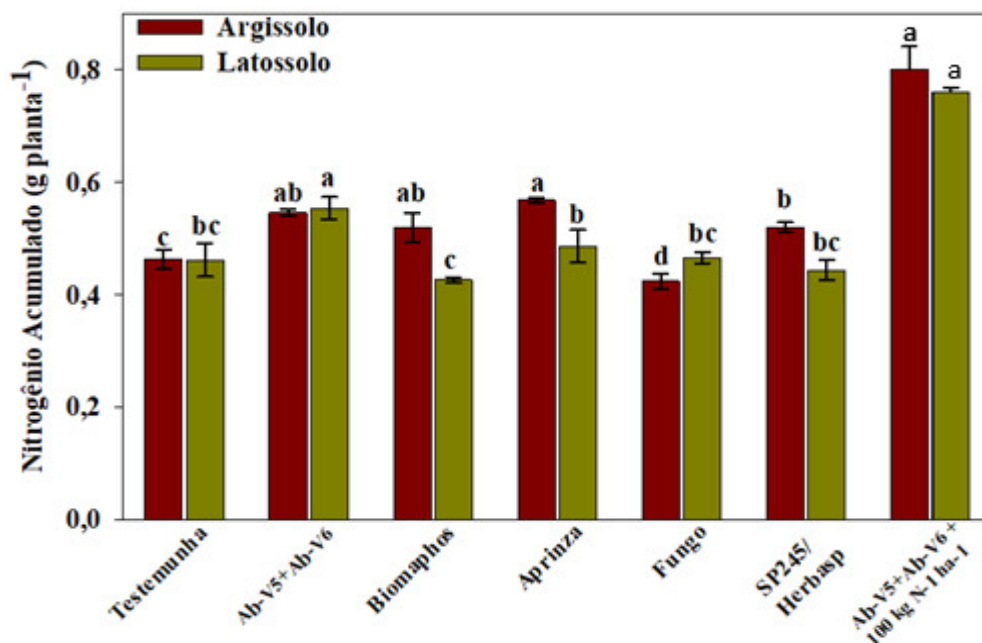


Figura 9. Nitrogênio acumulado em plantas de milho cultivada em Argissolo e Latossolo, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento. *Médias seguidas da mesma letra, dentro do mesmo solo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Apesar do produto comercial Aprinza, que contém a bactéria *Nitrospirillum amazonense*, ter sido desenvolvido e ser amplamente utilizado em cana-de-açúcar, no milho, a inoculação com esse inoculante se mostrou bastante eficiente, conferindo um maior acúmulo de nitrogênio para as plantas. Reis et al., (2020), observaram que houve melhoras nos parâmetros de crescimento das plantas de cana-de-açúcar e esses benefícios resultaram em aumento significativo na produtividade e na quantidade de açúcar por hectare. No milho essa inoculação se mostrou bastante promissora em termos de acúmulo de nitrogênio na planta, sendo o tratamento que apresentou melhor resposta nas plantas cultivadas em Argissolo.

O aumento nos teores de N em plantas inoculadas com *Azospirillum sp.* é comumente relatado, podendo ser resultado tanto da fixação biológica de N_2 , quanto dos mecanismos de promoção do crescimento, que pode aumentar a capacidade das plantas em absorver este nutriente (DOBBELAERE et al., 2001).

4.5 Altura e Diâmetro do Colmo no Milho

Em relação à altura das plantas (Figura 10), quando cultivadas em Latossolo, apresentaram a melhor resposta. Quando as plantas foram inoculadas com o FMA e BiomaPhos a altura das plantas obteve um maior incremento (162,4 e 158,8 cm) respectivamente. A inoculação com os demais inoculantes não apresentou diferença estatística. Seguido pela inoculação com Aprinza (146,8 cm), SP245/*Herbaspirillum* (145,7 cm), testemunha (140,3 cm) e Ab-V5 + Ab-V6 (140,4 cm).

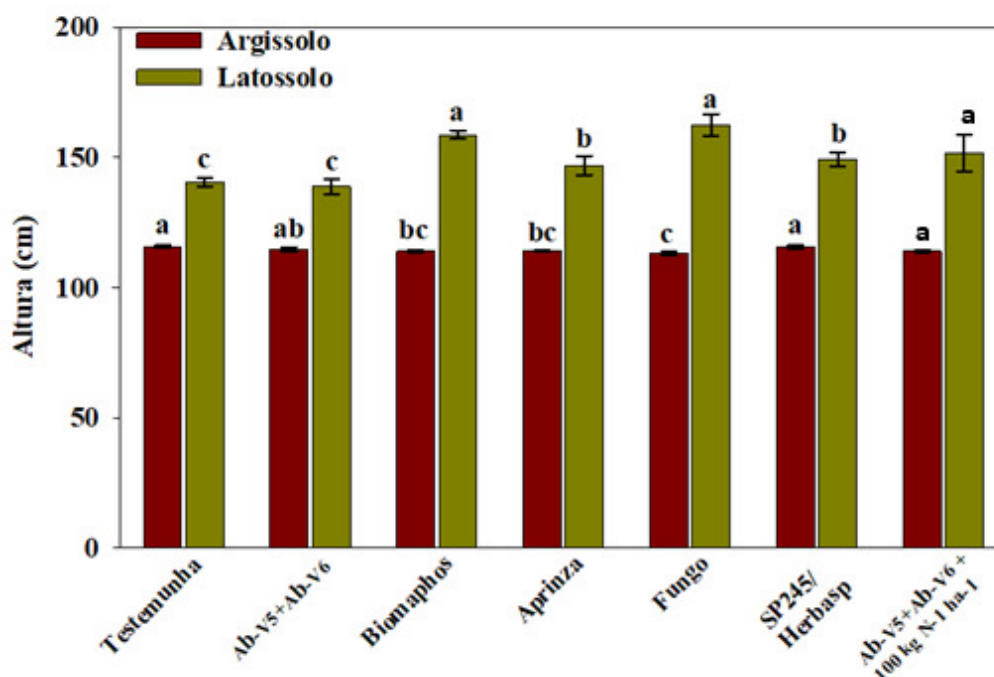


Figura 10. Altura de plantas de milho cultivada em Argissolo e Latossolo, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento. *Médias seguidas da mesma letra, dentro do mesmo solo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Nas plantas cultivadas em Argissolo, a melhor resposta em altura foi observada quando as plantas não foram inoculadas (115,7 cm), seguido pela inoculação com SP245/*Herbaspirillum* (115,5 cm), Ab-V5 + Ab-V6 (114,7 cm). Os demais tratamentos não apresentaram diferença estatística. Seguido da inoculação com Aprinza, BiomaPhos e FMA (114; 113,9 e 113,2 cm), respectivamente.

Quanto ao diâmetro do colmo (Figura 11), as plantas cultivadas em Latossolo obtiveram as melhores respostas quando as plantas foram inoculadas com AbV5+AbV6 (22,2 mm), SP245/*Herbaspirillum* (21 mm), FMA (19,9 mm). Os demais inoculantes não tiveram diferença estatística. Seguido da inoculação com Aprinza (19 mm), testemunha (17 mm) e por último BiomaPhos (16,7 mm). Nas plantas cultivadas em Argissolo, a inoculação com BiomaPhos e FMA proporcionaram maior diâmetro do colmo (21,4 e 20,3 mm), respectivamente. Os demais tratamentos não apresentaram diferença estatística. Seguido da testemunha sem inoculação com 18,6 mm, a inoculação com Aprinza com 18,6 mm, Ab-V5 + Ab-V6 (17,1 mm) e por último SP245/*Herbaspirillum* (17 mm).

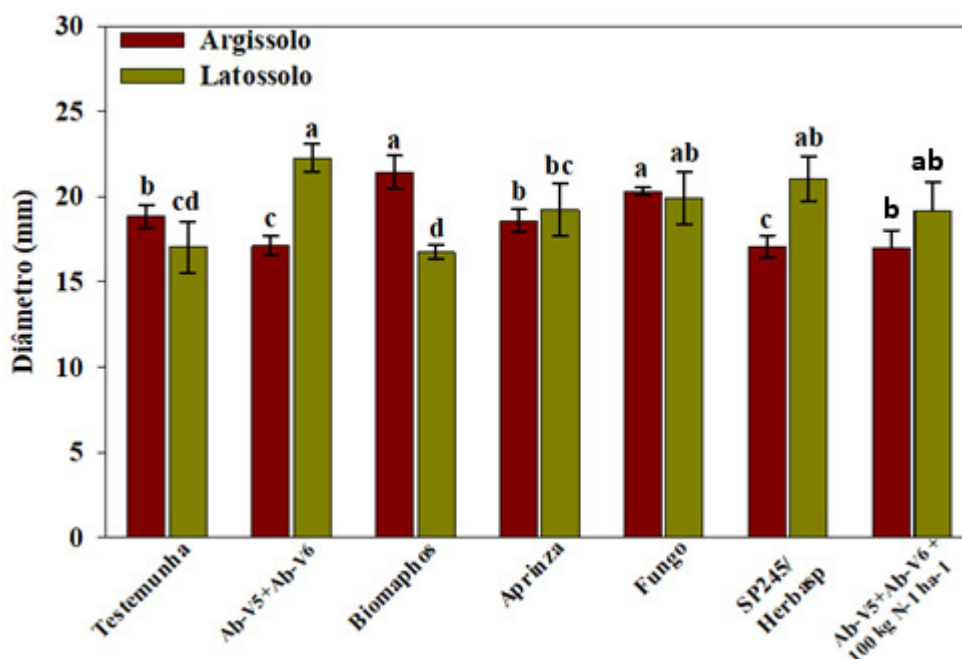


Figura 11. Diâmetro em plantas de milho cultivada em Argissolo e Latossolo, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento. *Médias seguidas da mesma letra, dentro do mesmo solo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.6 Eficiência do Uso de N e Teores de Clorofila

Em relação ao teor de clorofila nas plantas (Figura 12), no Argissolo, a inoculação com BiomaPhos ($41,6 \text{ g dm}^{-2}$) proporcionou maior teor de clorofila nas plantas, sendo o único que apresentou diferença estatística, seguido do tratamento controle sem inoculação ($35,3 \text{ g dm}^{-2}$), Ab-V5+Ab-V6 ($34,5 \text{ g dm}^{-2}$), Aprinza ($33,7 \text{ g dm}^{-2}$), SP245+Herbasp ($33,1 \text{ g dm}^{-2}$) e por último a inoculação com FMA ($31,6 \text{ g dm}^{-2}$). No Latossolo, a inoculação não influenciou no teor de clorofila das plantas quando comparado com a testemunha sem inoculação. O maior teor de clorofila foi verificado na inoculação com SP245+Herbasp ($41,8 \text{ g dm}^{-2}$), seguido da inoculação com Aprinza ($41,4 \text{ g dm}^{-2}$), Testemunha (41 g dm^{-2}), BiomaPhos ($40,6 \text{ g dm}^{-2}$), Ab-V5 + Ab-V6 ($38,5 \text{ g dm}^{-2}$) e por último a inoculação com FMA ($36,3 \text{ g dm}^{-2}$). Não havendo diferença significativa entre os tratamentos. Apenas a inoculação com FMA apresentou diferença estatística entre os demais tratamentos.

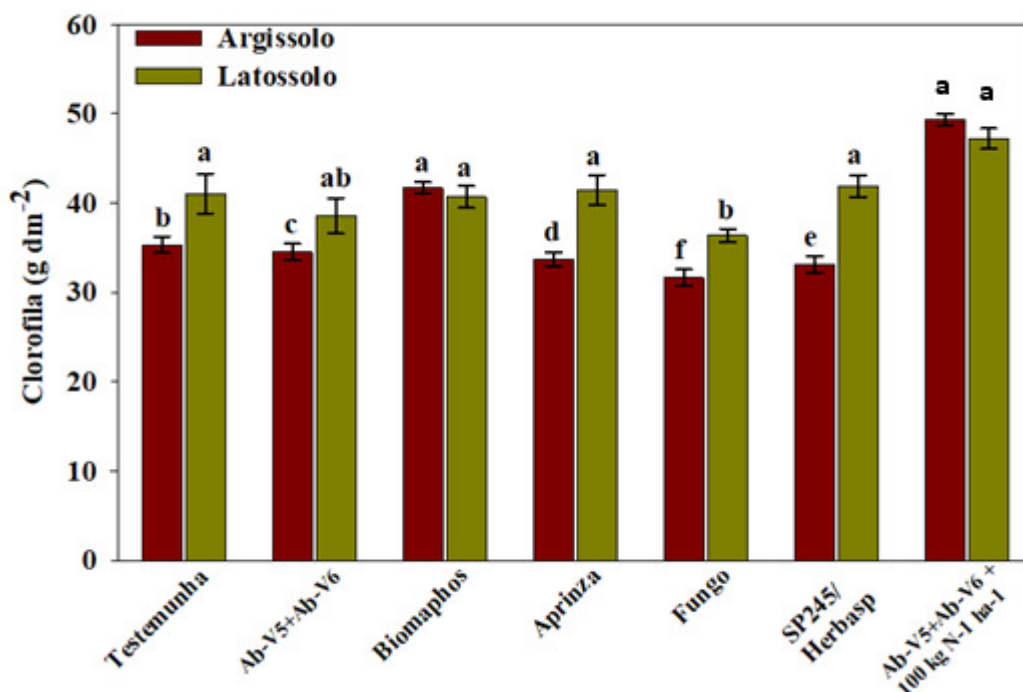


Figura 12. Clorofila em plantas de milho cultivada em Argissolo e Latossolo, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento. *Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A inoculação com os MPCPs proporcionou maior eficiência de uso do N-fertilizante nos dois tipos de solo utilizados. Sendo no Argissolo a inoculação com Aprinza e no Latossolo com Ab-V5 + Ab-V6 os tratamentos que apresentaram diferença estatística entre os demais.

Quanto a eficiência de uso do N fertilizante (Figura 13), para as plantas cultivadas em Argissolo o inoculante que apresentou maior eficiência (89,6%) foi o Aprinza (*N. amazonense*), seguido do inoculante BiomaPhos (*Bacillus subtilis* + *Bacillus megaterium*) com (87,8%), Ab-V5 + Ab-V6 (*A. brasilense*) com (86,4%), SP245 + *Herbaspirillum* (*H. seropedicae* + *A. baldaniorum*) com (84,6%), a testemunha (50 mg N kg⁻¹ solo⁻¹) com (74%) e por último o inoculante a base de FMA (*R. intraradices*) com (70,2%).

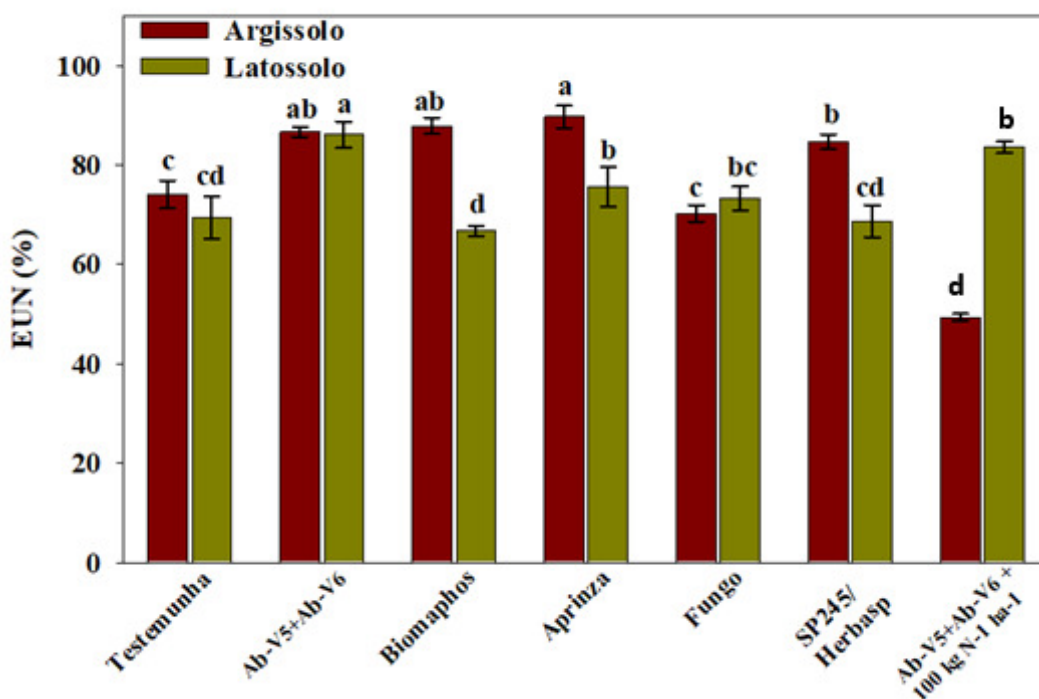


Figura 13. Eficiência de uso do N fertilizante em plantas de milho cultivadas em Argissolo e Latossolo, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento vegetal. *Médias seguidas pela mesma letra entre barras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey. ($p < 0,05$).

Para as plantas cultivadas em Latossolo, a maior eficiência de uso do N fertilizante foi encontrada no inoculante Ab-V5 + Ab-V6 com (86%), seguido pelo inoculante Aprinza com (75,6%), FMA com (73,2%), SP245 + *Herbaspirillum* com (68,6%) e por último com a menor eficiência o inoculante BiomaPhos com (66,7%).

4.7 Teores de Macro e Micronutrientes nas Folhas

Os valores de macro e micronutrientes das plantas (folhas + caule) inoculadas por MPCPs são apresentados na Tabela 3. Houve diferença significativa entre os tratamentos e os teores de nutrientes com o efeito da inoculação para ambos os solos. No Argissolo observou-se que nutrientes como Fe e Zn aumentaram pela aplicação de Ab-V5+Ab-V6 e Aprinza.

Nas plantas cultivadas em Latossolo, o uso do FMA proporcionou maior teor de K. A inoculação com BiomaPhos e Aprinza proporcionaram maiores teores de Fe e a testemunha nitrogenada proporcionou maior teor de Mn e o diferiu estatisticamente dos demais tratamentos no solo em questão.

Tabela 3. Teores de macro e micronutrientes em plantas de milho cultivadas em solos inoculados com microrganismo promotores de crescimento vegetal.

Tratamentos	K	N	Ca	Mg	P	Cu	Fe	Mn	Zn
	----- (g Kg ⁻¹) -----				----- (mg Kg ⁻¹) -----				
	Argissolo								
Controle	15,7a	13,6a	2,4 ^a	3,2a	1,3a	5,5a	59,0b	22,3a	23,7bc
Ab-V5+Ab-V6	17,3a	10,2a	2,5 ^a	3,2a	1,4a	5,7a	87,7a	18,7a	26,1ab
Biomaphos	17,6a	9,9a	2,5 ^a	3,0a	1,5a	5,6a	52,6b	20,1a	22,0c
Aprinza	17,7a	9,4a	2,4 ^a	3,1a	1,4a	6,0a	53,2b	21,7a	27,7a
FMA	16,7a	11,0a	2,6 ^a	2,94a	1,5a	5,6a	46,7b	22,6a	24,0bc
SP245 + <i>Herbaspirillum</i>	17,2a	15,4a	2,3 ^a	2,95a	1,5a	5,9a	41,4b	19,5a	23,3bc
Latossolo									
Controle	7,6ab	8,1a	2,7 ^a	3,0a	1,0a	4,3a	48,4ab	27,5a	23,3a
Ab-V5+Ab-V6	8,4ab	6,2a	2,4 ^a	2,5a	1,0a	5,0a	40,2b	18,6c	21,4a
Biomaphos	6,6b	7,6a	2,3 ^a	2,5a	1,0a	4,8a	55,7a	17,0cd	21,4a
Aprinza	7,1b	8,2a	2,4 ^a	2,8a	0,9a	5,7a	54,1a	23,3b	24,8a
FMA	9,2a	7,0a	1,8 ^a	2,3a	1,0a	4,9a	40,0b	22,5b	21,7a
SP245 + <i>Herbaspirillum</i>	7,9ab	8,0a	2,4 ^a	2,6a	1,0a	4,7a	40,5b	14,2d	22,9a

5.DISSCUSSÃO

5.1 Resposta Agronômica de Doses Crescentes de N

Os resultados observados para o acúmulo de massa seca sugerem que as maiores doses de nitrogênio proporcionaram os melhores desempenhos, evidenciando que a aplicação de doses mais elevadas contribui significativamente para o acúmulo de biomassa. Segundo Galindo et al. (2021) a maior disponibilidade de N resultante da aplicação de fertilizantes nitrogenados resulta em uma maior biomassa da parte aérea em plantas de milho e trigo.

Resultados semelhantes foram encontrados por Sodré et al. (2025), avaliando o efeito da adubação nitrogenada no crescimento inicial do milho, onde foi constatado um aumento positivo na massa seca do milho com o incremento das doses de nitrogênio.

5.2 Acúmulo de Nitrogênio sem Inoculação

O acúmulo linear de nitrogênio após as doses crescentes do fertilizante nitrogenado foi semelhante ao obtido por Gava et al. (2010), que avaliaram doses crescentes de nitrogênio marcadas com ^{15}N - ureia e verificaram que com a elevação da dose de N-fertilizante houve aumento da massa de matéria seca, na taxa de produção de matéria seca, da produtividade e no acúmulo de N nas plantas de milho cultivado em Nitossolo Vermelho eutroférico.

Avaliando o crescimento do milho cultivado em resposta a *Azospirillum brasilense* e nitrogênio Moreno et al., (2019) verificaram que a adubação nitrogenada do solo também resultou em aumento de massa seca da parte aérea, do colmo e da raiz. De acordo com os autores, a obtenção desta resposta evidencia a importância do nitrogênio para a cultura, confirmando que é essencial a disponibilização do N logo nos primeiros estágios de desenvolvimento das plantas.

Em condições edafoclimáticas do Bioma Amazônia, Amaral et al., (2024), estudando o crescimento de plantas de milho submetidos as doses, fontes e épocas de aplicação, verificaram que altas doses de nitrogênio (121 a 131 kg ha^{-1}) promoveram maior crescimento vegetativo do milho e ainda constataram que a melhor época de aplicação do nutriente corresponde ao estágio fenológico V4, quando a planta apresentou maior acúmulo de massa seca.

A massa seca da planta é afetada pelo teor de N disponível, por ser constituinte de proteínas, ácidos nucleicos, clorofila, coenzimas, fito-hormônios e metabólitos secundários em plantas (HAWKESFORD et al., 2012). Assim, para o acúmulo de biomassa nas plantas é fundamental a presença de N no solo em níveis não limitantes e nem excessivo.

Estudos apontaram que elevadas doses de N amoniacais ocasionaram a redução do teor de N foliar (FERREIRA et al., 2009), pois os excessos de fertilizantes nitrogenados são prejudiciais, devido à salinidade do fertilizante e grandes quantidades de amônio, que provocam toxidez, a qual causa a inibição da síntese de clorofila, degradação de cloroplastos e proteínas (PRADO, 2008). Segundo Fernandes et al. (2005), geralmente, o aproveitamento de N decresce com o aumento das doses aplicadas, uma vez que o suprimento deste nutriente excede as necessidades da cultura.

Os resultados mostram que esse insumo é mais eficiente em condições de baixa demanda de nitrogênio (N) pelas plantas, como ocorre em pequenos produtores. No entanto, são necessários mais estudos para aumentar a eficiência desse insumo em culturas de alto rendimento. É essencial determinar a dosagem mais adequada para cada condição edafoclimática, considerando também a demanda específica da cultura.

5.3 Resposta Agronômica a Aplicação de Bioinsumos

5.3.1 Produção de massa seca

Avaliando o desenvolvimento e nutrição inicial do milho com inoculação do Biomaphos associado a fontes fosfatadas Brito et al. (2022), observaram que a associação entre os inoculantes solubilizadores de fósforo e fertilizantes fosfatados promoveu o aumento da massa seca e alteraram a disponibilidade e absorção de P durante os 45 DAE da cultura do milho. Esses resultados, no entanto, não foram observados neste trabalho, em que após a inoculação com o Biomaphos, o acúmulo de massa seca nas plantas de milho não foi significativo, possivelmente devido às características do solo ou a forma de aplicação do inoculante ao solo, que pode ter feito com que o inoculante não solubilizasse o P da solução do solo ou não reduzisse a fixação do P no solo (BITTENCOURT et al., 2024).

Corroborando com o trabalho de Piccinin et al. (2011) e Braccini et al. (2012), os autores constataram que houve aumento relativo na produção de massa seca com a inoculação de sementes de milho, pelo uso de *Azospirillum brasilense* associada a meia dose de nitrogênio (50 kg N ha⁻¹) na cultura do trigo que possui semelhanças com o milho por ser uma gramínea. Segundo Huergo et al. (2008) e Hungria et al. (2010), aumentos na produção de massa seca e na produtividade de sementes de milho em resposta à inoculação podem ser atribuídos ao estímulo proporcionado pelas bactérias diazotróficas sobre o desenvolvimento de sistema radicular, aumentando a densidade de pelos radiculares, o comprimento, o volume e o número de raízes laterais, o que resulta em maior capacidade de absorção, utilização de água e de nutrientes.

A inoculação de milho com bactérias do gênero *A. brasilense*, tanto em plantios onde não foi realizada a adubação quanto em plantios que receberam N na adubação de cobertura, promove a produção de substâncias promotoras de crescimento, solubilização de fosfatos e o aumento da resistência da planta a estresse abiótico e a FBN (OLIVEIRA et al., 2018).

5.3.2 Resposta do acúmulo de nitrogênio à inoculação

O baixo acúmulo de N obtido com a inoculação do Biomaphos com as estirpes de *Bacillus* comprovam a baixa eficiência do produto comercial BiomaPhos no acúmulo de N, o que pode ser explicado pelo fato de o produto ser formulado com duas estirpes do gênero *Bacillus* (*Bacillus subtilis* + *Bacillus megaterium*), capazes de solubilizar fosfato e aumentar a eficiência do uso de P pelas plantas. Porém, quando o teor de P do solo não é suficiente, a inoculação pode não trazer benefícios adicionais e até mesmo alterar a dinâmica de outros nutrientes como o N, afetando negativamente o crescimento (SANTOS et al., 2008).

5.3.3 Resposta em altura e diâmetro do colmo no milho

Avaliando o crescimento e micorrização por FMAs em genótipos de milho em casa de vegetação Campos et al. (2010) obtiveram resultados semelhantes, nos quais os genótipos de milho quando na presença de FMA, exibiram maior crescimento e, consequentemente, as maiores alturas, demonstrando a influência positiva da inoculação, possivelmente por meio do aumento da absorção de água e nutrientes. A inoculação com FMA tem sido favorável para promover bom desenvolvimento das plantas. Segundo Smith e Read (1997), os efeitos da inoculação com FMA podem causar diferentes resultados nas plantas hospedeiras, desde pequeno a um ótimo desenvolvimento.

A ausência de resposta à altura de plantas em função da inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum* associada a aplicações de adubação nitrogenada em milho também foi

evidenciada por Campos et al. (2000) e Cavallet et al. (2000), onde a inoculação das plantas de milho como o produto comercial “Graminante” a base de *Azospirillum* não alterou a alturas das plantas.

5.4 Resposta da Eficiência do Uso de N e Teores de Clorofila

5.4.1 Teor de clorofila

O teor de clorofila indica a sanidade e eficiência da fotossíntese das plantas, fornecendo informações sobre a concentração de clorofila nas folhas, auxiliando na tomada de decisões relacionadas ao manejo agrícola (RONG-HUA et al., 2006).

Apesar de não terem sido encontradas diferença significativa no teor de clorofila no presente trabalho, Quadros et al. (2014), constataram maior teor de clorofila em três diferentes híbridos de milho quando eles foram inoculados com bactérias do gênero *Azospirillum*, o que se deve à capacidade do milho de absorver N proveniente da fixação biológica ou ao efeito das bactérias promotoras de crescimento favorecendo a absorção de N do solo, indicando possível resposta varietal no milho.

5.4.2 Eficiência de uso do nitrogênio após inoculação

Bactérias do gênero *A. brasilense* auxiliam em diversos mecanismos na nutrição nitrogenada das culturas. Dentre esses mecanismos, destacam-se a produção de hormônios, que interferem no crescimento das plantas e podem alterar a morfologia das raízes, possibilitando a exploração de maior volume de solo e consequentemente maior absorção de N (VIANA, 2017).

Embora amplamente utilizada em cana-de-açúcar, as bactérias do gênero *N. amazonense* se mostraram eficazes em aumentar a eficiência de uso do N no milho. Com a inoculação dessa bactéria o crescimento da planta tem início em poucos dias pela aceleração da brotação de gemas e estimulação do crescimento de raízes, especialmente de raízes finas, que são as de maior atividade na absorção de água e nutrientes (COSTA, 2016; MATOSO, 2020; REIS et al., 2020).

Estudando doses de N em seis cultivares de milho e a eficiência de uso N pela cultura Fernandes et al. (2005), verificaram que a EUN de todos os híbridos testados diminuiu quando se aumentou a dose de N aplicada. Isso porque em elevados níveis de N aplicados, a planta não utiliza de forma eficaz esse nutriente. Quando fornecidos altos níveis de N na adubação, a planta mobiliza o nutriente para as partes vegetativas e não remobiliza eficientemente para as partes reprodutivas como o grão na fase de enchimento. Fato evidenciado pela resposta positiva da eficiência de uso do N no presente trabalho onde foi aplicado aos tratamentos inoculados apenas 50 mg N kg solo⁻¹, em que as plantas obtiveram uma eficiência de recuperação do N alta (> 60%).

Avaliando o efeito do *Azospirillum brasilense* na eficiência do uso de nitrogênio em híbridos de milho (Silva, 2024) evidencia o papel significativo da adubação nitrogenada e a inoculação com *Azospirillum brasilense* no aumento da eficiência do uso de nitrogênio para as variáveis clorofila, massa verde e altura total, refletindo em maior produtividade para os híbridos avaliados.

A falta de sinergismo entre a adubação nitrogenada e a inoculação com bactérias diazotróficas é relativamente bem estudado, porém não totalmente esclarecido. Acredita-se que a alta disponibilidade de nitrogênio no solo altera o estado da planta e inibe, de forma indireta, o estabelecimento da FBN, pois se supõe que, metabolicamente, é menos dispendioso para a planta utilizar o nitrogênio que está prontamente disponível no solo, ao invés de estabelecer uma associação com as bactérias diazotróficas (GYANESHWAR et al., 2002). Além disso, em

solos ricos em N ocorre uma diminuição na liberação de exsudatos radiculares pelas plantas, diminuindo o suprimento de C prontamente disponível pelas bactérias e, assim, as plantas reduzem os sinais bioquímicos emitidos aos microrganismos, o que afeta a associação com o organismo diazotrófico (MUTHUKU -MARASAMY et al., 1999).

5.5 Teores de Macro e Micronutrientes nas Folhas

A utilização da análise nutricional foliar como critério de diagnóstico baseia-se na premissa de existir uma relação bem definida entre o crescimento e a produção das culturas e o teor de nutrientes em seus tecidos. O nitrogênio contido nas plantas de milho não diferiu significativamente entre os tratamentos inoculados e não inoculados nos dois tipos de solo. A média de N na planta em todos os tratamentos foi de 11,7 g kg⁻¹ no Argissolo e 7,5 g kg⁻¹ no Latossolo. Esses baixos valores indicam que o N disponível no vaso pode ter sido limitado, comprometendo o crescimento das plantas, pois em condições de crescimento normalmente as plantas de milho apresentam valores de teores de N variando entre 27 e 35 g kg⁻¹ de acordo com Cantarella et al. (1997). No entanto, as plantas não apresentaram sintomas de deficiência em relação a esse nutriente.

Estudando o efeito da inoculação de *A. brasilense* e *B. subtilis* via semente na cultura do milho, Moreno et al. (2021), não constataram incremento no teor foliar de nitrogênio em plantas de milho inoculadas em comparação com plantas não inoculadas. Resultados semelhantes também foram observados por Peres et al. (2020), que ao estudarem o efeito da inoculação via semente com *A. brasilense* em três cultivares de milho, não constaram incremento do teor foliar de nitrogênio nas plantas de milho inoculadas em comparação com plantas não inoculadas, sendo um indicativo de que a cultivar ou material genético de milho são fatores que exercem influência quanto à eficácia da inoculação, possivelmente devido a especificidade do *Azospirillum* com a planta hospedeira.

O teor de P nas plantas não foi considerado adequado, estando abaixo de 2 a 4 g kg⁻¹ de acordo com Cantarella et al. (1997). No Argissolo, os maiores teores de P foram encontrados nos tratamentos inoculados com FMA e BiomaPhos (1,5 e 1,5 mg kg⁻¹), respectivamente. Já nas plantas cultivadas em Latossolo, os maiores teores foram encontrados nos tratamentos inoculados com FMA e Ab-V5+Ab-V6 (1,09 e 1,05 mg kg⁻¹), respectivamente. Porém, não houve diferença estatística entre os tratamentos nos dois solos utilizados.

Em estudos com a cultura do milho com diferentes doses de P associadas a inoculação com MPCPs, Pereira et al. (2020) constataram que a inoculação de *B. subtilis* e *A. brasilense* proporcionou aumento dos teores de P na folha, ao contrário do presente trabalho. Embora não observados efeitos significativos para o teor de P neste trabalho, estudos de inoculação de MPCPs na cultura do milho demonstram que plantas inoculadas com bactérias endofíticas de sementes, *A. brasilense*, *B. subtilis* ou *P. Fluorescens* apresentam maiores teores foliares de nitrogênio e fósforo (BOMFIM et al., 2020; PEREIRA et al., 2020).

O teor de potássio K no tecido foliar do milho estava com teores adequados apenas nas plantas cultivadas em Argissolo conforme Cantarella et al. (1997), onde os teores devem ser de 17-35 g kg⁻¹. Nas plantas cultivadas em Latossolo, o maior teor de potássio encontrado foi quando as plantas foram inoculadas com FMA (9,2 g kg⁻¹), sendo o único tratamento que diferiu estatisticamente entre os demais, porém com teor muito abaixo do adequado para a cultura. Esperava-se obter concentrações de K adequadas no milho em razão da adubação com K realizada, e dos teores nos solos utilizados estarem dentro da faixa adequada de disponibilidade, contudo tal contribuição não foi satisfatória.

O teor de Ca nas plantas não foi considerado adequado conforme Cantarella et al (1997), onde os teores devem ser de 2,5-8,0 g kg⁻¹. Nas plantas cultivadas em Argissolo, somente os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6, BiomaPhos e FMA estavam com teores

adequados de Ca (2,5; 2,5 e 2,5 g kg⁻¹), respectivamente. E nas plantas cultivadas em Latossolo apenas a testemunha sem inoculação obteve teor adequado de Ca (2,7 g kg⁻¹). Não houve diferença estatística entre os tratamentos em nenhum dos solos utilizados. Os teores de Ca encontrados foram inferiores ao encontrado por Francisco et al. (2012) em que ao inocular milho com *A. brasilense* e adubação de cobertura com 30 kg N ha⁻¹ em um Latossolo Vermelho Distrófico, obteve teor foliar de Ca igual a 2,7 g kg⁻¹.

Os teores de Mg não foram considerados adequados segundo Cantarella et al (1997), sendo os teores adequados (1,5-5,0 g kg⁻¹). Apenas a inoculação com BiomaPhos, FMA e SP245+ *Herbaspirillum* obteve os teores adequados de Mg nas plantas cultivadas em Argissolo (1,5; 1,5 e 1,5 g kg⁻¹), respectivamente. Consequentemente, a cultura do milho apresentou deficiência e clorose associado ao Mg. Araújo (2008), avaliando a emergência e o desenvolvimento das plantas de milho, em função da inoculação com bactéria promotora de crescimento em plantas, também encontraram maior teor de K, Ca e Mg foliar no tratamento com inoculação em relação à testemunha.

Para o teor foliar de cobre (Cu), não houve diferença com relação aos tratamentos inoculados (Tabela 3). Os teores adequados variam entre 6 a 20 mg kg⁻¹ (CANTARELLA et al., 1997). Sendo assim, apenas o tratamento inoculado com Aprinza (6,05 mg kg⁻¹) onde as plantas foram cultivadas em Argissolo obteve os teores adequadas.

Em relação ao teor de ferro (Fe) foliar foi observado diferença estatística em ambos os solos. Nas plantas cultivadas em Argissolo, o tratamento inoculado com Ab-V5 + Ab-V6 proporcionou maior teor desse micronutriente (87,7 mg kg⁻¹). Já nas plantas cultivadas em Latossolo, os maiores teores de Fe foram encontrados após a inoculação com BiomaPhos e Aprinza (55, 7 e 54,1 mg kg⁻¹). Os demais tratamentos não obtiveram resposta significativa. Os teores foram considerados adequados segundo Cantarella et al (1997), sendo de 30 a 250 mg kg⁻¹.

Para os teores de manganês (Mn) foliar houve diferença significativa para as plantas cultivadas em Latossolo quando elas não foram inoculadas (27,5 mg kg⁻¹). Ou seja, a não inoculação das plantas proporcionou maior teor de Mn. Segundo Cantarella et al (1997) os teores adequados de Mn foliar variam entre 20 a 200 mg kg⁻¹. Nos dois solos os tratamentos que não obtiveram os teores adequados foram Ab-V5 + Ab-V6 e SP245+*Herbaspirillum*.

Em relação aos teores de zinco (Zn), houve diferença estatística apenas para as plantas cultivadas em Latossolo quando inoculadas com Aprinza (27,7 mg kg⁻¹). Os demais tratamentos não apresentaram diferença significativa. No entanto todos os tratamentos apresentaram teores adequados (Tabela 3) dentro da faixa de suficiência de 15 a 100 mg kg⁻¹ (CANTARELLA et al., 1997).

Segundo Büll (1993), na planta de milho os níveis nutricionais considerados críticos são: N (27,5 g kg⁻¹), P (1,9 g kg⁻¹), K (17,5 g kg⁻¹), Ca (2,3 g kg⁻¹), Mg (1,5 g kg⁻¹), para macronutrientes; e Cu (6 mg kg⁻¹), Fe (50 mg kg⁻¹), Mn (42 mg kg⁻¹), Zn (15 mg kg⁻¹), para micronutrientes. As concentrações de micronutrientes do presente trabalho foram superiores aos valores considerados críticos por Büll (1993), apenas para os teores de Zn e Fe. Os teores de Cu e Mn encontrados foram inferiores aos considerados valores críticos para a cultura do milho.

Contudo, há que se tomar cuidado na interpretação dos teores de nutrientes na parte aérea de milho do presente experimento em relação aos teores considerados adequados pela literatura, já que normalmente aqueles tratam de plantas adultas, enquanto no presente experimento a análise foi realizada em plantas com 45 dias de crescimento. Os valores estabelecidos por (CANTARELLA et al., 1997) são considerados para planta inteira no final de ciclo de crescimento que varia de 110 a 180 dias após o plantio.

6. CONCLUSÃO

Os parâmetros produção de massa seca, acúmulo de N pelas plantas e a eficiência de uso da adubação nitrogenada apresentaram comportamento com alto grau de independência, na resposta da planta aos diferentes tratamentos de inoculação estudados. Em relação à produção de massa seca, no Argissolo, somente o inoculante Ab-V5 + Ab-V6, promoveu crescimento significativo das plantas, enquanto no Latossolo todos os tratamentos, exceto Biomaphos, favoreceram significativamente o crescimento das plantas. Quanto ao acúmulo total de N total pelas plantas, no Argissolo, somente o inoculante Ab-V5 + Ab-V6 apresentou efeito favorável. No Latossolo, os melhores resultados foram obtidos com os inoculantes Ab-V5 + Ab-V6 e Aprinza.

Os resultados da eficiência de uso do N fertilizante resumem adequadamente o desempenho dos inoculantes avaliados. No Argissolo, a eficiência de uso do nitrogênio (EUN) variou de 74% (testemunha) a uma média de 87,1% nos melhores tratamentos, com exceção do fungo micorrízico. No latossolo, a EUN variou de 70% (testemunha) a 86%, sendo os únicos tratamentos favoráveis Ab-V5 + Ab-V6 (86%) e Aprinza (75,6%).

Os teores de K, Fe, Zn e Mn apresentaram resposta significativa após a inoculação das plantas de milho. Com base no acúmulo desses nutrientes, os inoculantes que demonstraram melhor desempenho foram Ab-V5 + Ab-V6, BiomaPhos, Aprinza e FMA. Por outro lado, o inoculante SP245+*Herbaspirillum* não apresentou respostas satisfatórias em relação ao acúmulo de nutrientes.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCANTARA, R. M. C. M., DE SOUSA, T. S., PERES, T. D. L., OLIVEIRA, A. D. S., DA SILVA, E. A., COSTA, P. M. **Parâmetros morfológicos e produtivos da cultura do milho inoculado com bactérias promotoras de crescimento vegetal em Teresina, PI.** 2021.
- AMARAL, V. M., DE CINQUE MARIANO, D., MACIEL, R. P., DE OLIVEIRA NETO, C. F., FRANCO, A. A. N., OKUMURA, R. S. Crescimento de plantas de milho no Bioma Amazônia submetidos as doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, 15(2), 206-219.
- ANDREUCCI, M. A. **Perdas nitrogenadas e recuperação aparente de nitrogênio em fontes de adubação do capim elefante.** 2007. 102p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- ANTONIOLLI, Z. I.; FACELLI, E.; O' CONNOR, P.; MILLER, D.; OPHEL-KELLER, K.; SMITH, S. Spore communities of arbuscular mycorrhizal fungi and mycorrhizal associations in different ecosystems, South Austrália. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 627-635, 2002.
- ARAÚJO, E. O.; VITORINO, A. C. T.; MERCANTE, F. M. Doses de nitrogênio e inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho em condições de solo fértil. **Acta Agrônômica**, v. 65, n. 1, p. 16-23, 2016.
- ARDAKANI, M. R., MAZAHARI, D., MAFAKHERI, S., & MOGHADDAM, A. Absorption efficiency of N, P, K through triple inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces* sp., *Glomus intraradices* and manure application. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, 17:181–192. 2011.
- ARSHAD, M.; FRANKEBERGER, W.T. Plant growth-regulating substances in the rhizosphere: microbial production and functions. **Advances in Agronomy**, v.62, p.45-151, 1998.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES E IMPORTADORES DE INOCULANTES (ANPII) - Estatísticas. Disponível em: < <http://anpii.org.br/estatisticas/>>. Acesso em: 7 ago. 2024.
- BALDANI, J., CARUSO, L., BALDANI, VL, GOI, SR, & DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.29, p.911-922, 1997.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; SELDIN, L.; DOBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v. 36, p. 86-93, 1986.
- BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DOBEREINER J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, p.911-922, 1997.

BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; SELDIN, L.; DÖBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov.: a root-associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 36, n. 1, p. 86-93, 1986b.

BARBOSA, J. Z., CONSALTER, R., VEZZANI, F. M., & MOTTA, A. C. V. Bactérias e Fungo FMAs benéficos na endosfera das plantas. **Revista Agrogeoambiental**, v. 7, n. 3, 2015.

BARBOSA, J. Z., ROBERTO, L. A., HUNGRIA, M., CORRÊA, R. S., MAGRI, E., & CORREIA, T. D. (2022). Meta-analysis of maize responses to *Azospirillum brasilense* inoculation in Brazil: Benefits and lessons to improve inoculation efficiency. **Applied Soil Ecology**, 170, 104276.

BASHAN, Y., HOLGUIN, G. **Bactérias promotoras do crescimento de plantas: uma ferramenta potencial para reflorestamento de manguezais áridos.** *Trees* **16** , 159–166 (2002).

BATISTA, V.; OLIGINI, K.; GIARETTA, R.; RABELO, P.; ADAMI, P.; LINK, L. Densidade de plantas e doses de nitrogênio no cultivo de milho safrinha no Paraná **Agrarian**. v.12, n.45, p. 296-307, 2019.

BAYER C, FONTOURA SMV. Dinâmica do nitrogênio no solo, pré-culturas e o manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho em plantio direto. In: Fontoura SMV, Bayer C, editores. Manejo e fertilidade de solos em plantio direto. Guarapuava: **Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária**; 2006.

BENEDETTI, T., ANTONIOLLI, Z. I., GIRACCA, E. M. N., & STEFFEN, R. B. Diversidade de Fungo FMAs micorrízicos arbusculares na cultura do milho após uso de espécies de plantas de cobertura de solo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 4, n. 1, p. 44-51, 2005.

BESSEN, M.R.; RIBEIRO, R.H.; MELLO, G.R.; BRATTI, F.; PIVA, J.T. Fontes minerais de nitrogênio na sucessão milho-trigo em sistema de plantio direto. **Journal of Agronomic Sciences**, 7: 87-102, 2018.

BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1327-1350, 2012.

BOMFIM, CSG, DA SILVA, VB, CURSINO, LHS, MATTOS, WDS, SANTOS, JCS, DE SOUZA, LSB, ... & FERNANDES-JÚNIOR, PI. **Endophytic bacteria naturally inhabiting commercial maize seeds occupy different niches and are efficient plant growth-promoting agents.** *Symbiosis*, v. 81, n. 3, p. 255-269, 2020.

BRACCINI, A. L.; DAN, L. G. M; PICCININ, G. G.; ALBRECHT, L. P.; BARBOSA, M. C. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, Associated with the use of bioregulators in maize. **Revista Caatinga**, v.25, n.2, p.58-64, 2012.

BÜLL, L. T. Nutrição mineral do milho. In: BÜLL, L. T.; CANTARELLA, H. (Ed.). Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade. **Piracicaba: Potafos**, 1993. p. 63-145.

BUZO, F. D. S. **Micorrizas na cultura do milho: promoção de crescimento e maior eficiência da adubação fosfatada**. 2021.

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

CAMPOS, D. T. D. S., ANDRADE, J. A. D. C., & CASSIOLATO, A. M. R. Crescimento e micorrização de genótipos de milho em casa de vegetação. **Bragantia**, v. 69, p. 555-562, 2010.

CANTARELLA H, DUARTE AP. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. In: Galvão JCC, Miranda GV, editores. **Tecnologias de produção do milho**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa; 2004. p.139-82.

CANTARELLA, H.; LERA, F.L.; BOLONHEZI, D.; LARA CABEZAS, W.A.R.; TRIVELIN, P.C.O. Antecipação de N em milho em sistema de plantio direto usando 15N-uréia. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO**, 29., Ribeirão Preto, 2003. Resumos... Ribeirão Preto: SBCS, 2003. CD-ROM.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. VAN; CAMARGO, C. E. O. Cereais. In: Raij, B. Van; Cantarella, H.; Quaggio, J. A.; Furlani, A. M. C. **Recomendações de calagem e adubação para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1997, 285 p. (Boletim técnico, 100).

CARGNELUTTI, D., BAMPI, E., DE MELO SANTIAGO, G., DA LUZ, V. C., GARBIN, E., CASTAMANN, A., & MOSSI, A. J. Soluções tecnológicas emergentes para uma agricultura sustentável: microrganismos eficientes. **García, LMH Agroecologia: princípios e fundamentos ecológicos aplicados na busca de uma produção sustentável**, Canoas: Mérida Publishers, p. 31-62, 2021.

Cavallet, L. E., Pessoa, A. C. D. S., Helmich, J. J., Helmich, P. R., & Ost, C. F. Produtividade do milho em resposta a aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum spp.* **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.4, n.1, p.129-132, 2000.

COELHO, A. M.; RESENDE, A. V. de; SANTOS, F. C. dos. Exigências nutricionais e adubação. In: CRUZ, J. C.; MAGALHAES, P. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; MOREIRA, J. A. A. (ed.). Milho: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**; Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. cap. 6, p. 73-92.

COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E. Seja o doutor do seu milho: nutrição e adubação. 2.ed. Piracicaba: Potafos, 1995. 9p.

CONAB. **Boletim Da Safra De Grãos – Abril de 2024**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 30 de abr. 2024.

CONAB. **Custos de produção**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/custos-de-producao/planilhas-de-custo-de-producao/itemlist/category/821-milho>. Acesso em: 27 de fevereiro. 2025.

COSTA, C. B. S. K.; **Monitoramento do estabelecimento das bactérias presentes no inoculante da Embrapa, durante o desenvolvimento inicial de plantas de cana-de-açúcar utilizando técnicas microbiológicas e moleculares.** Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

COUTINHO, F. P., MATOS, E., & YANO-MELO, A. M. Inoculação de Fungo FMAs micorrízicos arbusculares e solubilizadores de fosfato na rizosfera de videira (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon). **Revista Biociências**, v. 23, n. 2, p. 46-53, 2017.

CUNHA, J. S. **O agronegócio do milho transgênico no oeste sergipano.** 2015.

DANTAS, Tiago. **Agricultura Sustentável: o Homem e o Meio Ambiente**"; Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilescola.uol.com.br/geografia/agricultura-sustentavel-homem-meio-ambiente.htm>. Acesso em 27 de novembro de 2023.

DELWICHE, C.C.; STEYN, P.L. Nitrogen isotope fractionation in soils and microbial reactions. **Environmental Science and Technology**, Washington, v.4, n.11, p. 929-935, 1970.

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**, v. 31, n. 9, p. 645-651, 1996.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; DUTTO, P.; LABANDERA-GONZALEZ, C.; CABALLERO-MELLADO, J.; AGUIRRE, J.F.; KAPULNIK, Y.; BRENER, S.; BURDMAN, S.; KADOURI, D.; SARIG, S. & OKON, Y. Response of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Aust. J. Plant Physiol.**, 28:871-879, 2001.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; TRY, A.; VANDE BROEK, A.; VANDERLEYDEN, J. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. **Plant and Soil**, v. 212, p. 155-164, 1999.

DÖBEREINER, J., & PEDROSA, F. O. **Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants.** Madison: Science Tech Publishers, 1987.

DOTTO, A. P.; LANA, M. do C.; STEINER, F.; FRANDOLOSO, J. F. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 3, p. 376-382, jul./set. 2010.

DUARTE, A. P. Característica e sistemas de produção. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (Ed.). **Tecnologias de produção do milho.** Viçosa: UFV, 2004. p. 109-139.

DUETE, R. R. C. **Estudo de doses, parcelamento e formas de nitrogênio na adubação de milho usando 15N.** Piracicaba, 2000. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Universidade de São Paulo, Piracicaba.

EL ZEMRANY, H., CORTET, J., LUTZ, M. P., CHABERT, A., BAUDOIN, E., HAURAT, J., & MOËNNE-LOCCOZ, Y. Field survival of the phytostimulator *Azospirillum lipoferum* CRT1 and functional impact on maize crop, biodegradation of crop residues, and soil faunal

indicators in a context of decreasing nitrogen fertilisation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, n. 7, p. 1712-1726, 2006.

ELMERICH, C., & NEWTON, WE. **Bactérias fixadoras de nitrogênio associativas e endofíticas e associações de cianobactérias**. Dordrecht: Springer, 2007.

FAGERIA, N. K. Solos tropicais e aspectos fisiológicos das culturas. Brasília, DF: EMBRAPA-DPU. 245 p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 18), 1989.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. World food and agriculture – Statistical Pocketbook. **FAO Statistics**, Rome, 254 p. 2018.

FEILER, H. P. **Comunidade de Fungo FMAs micorrízicos arbusculares em áreas de manejo de milho (*Zea mays* L.) orgânico, natural e convencional**. 2020. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

FERNANDES, F. C. S.; BUZZETI, S.; Arf, O.; Andrade, J. A. C. Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 4, n. 2, p. 195-204, 2005.

FERREIRA A. O.; SÁ J. C. M.; BRIEDIS C.; FIGUEIREDO A. G. de. Desempenho de genótipos de milho cultivados com diferentes quantidades de palha de aveia-preta e doses de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 2, p. 173-179, 2009.

FERREIRA, N.S.; SANT'ANA, F.H.; REIS, V.M.; AMBROSINI, A.; VOLPIANO, C.G.; ROTHBALLER, M.; SCHWAB, S.; BAURA, V.A.; BALSANELLI, E.; PEDROSA, F.O.; PASSAGLIA, L.M.P.; SOUZA, E.M.; HARTMANN, A.; CASSAN, F.; ZILLI, J.E. Genomebased reclassification of *Azospirillum brasilense* Sp245 as the type strain of *Azospirillum baldaniorum* sp. nov. **International Journal of Systematic and e Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 12, p. 6203-6212, 2020.

GALINDO, F. S; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZZETTI, S.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; ROSA, P. A. L.; TRITAPEPE, C. A. 2018. Technical and economic viability of co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars in the Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 22:51-56.

Galindo, FS, da Silva, EC, Pagliari, PH, Fernandes, GC, Rodrigues, WL, Biagini, ALC, ... & Teixeira Filho, MCM. Nitrogen use efficiency and recovery in a wheat-corn rotation under tropical savannah conditions. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 119:291-305, 2021.

GAVA, G.J.C.; OLIVEIRA, M.W.; SILVA, SILVA, M.A.; JERÔNIMO, E.M.; CRUZ, J.C.S.; E TRIVELIN, P.C.O. Produção de fitomassa e acúmulo de nitrogênio em milho cultivado com diferentes doses de 15N-uréia. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 851-862, 2010.

GAVA, G. J. D. C., TRIVELIN, P. C. O., OLIVEIRA, M. W., HEINRICHS, R., SILVA, M. D. A. Balanço de nitrogênio da uréia (15N) no sistema solo-planta na implantação da semeadura direta na cultura do milho. **Bragantia** , v. 65, pág. 477-486, 2006.

GILLER, K. E. **Nitrogen fixation in tropical cropping systems**. Cabi, 2001.

GOMES, R. F.; SILVA, A. G.; ASSIS, R. X.; PIRES, F. R. Efeito de doses e da época de aplicação de nitrogênio nos caracteres agrônômicos da cultura do milho sobre plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 31. n. 5. p. 931-938, 2007.

GOOD, A. G.; BEATTLY, P. Biotechnological Approaches to Improving Nitrogen Use Efficiency in Plants: Alanine Aminotransferase as a Case Study. In: HAWKESFORD, M. J. (Ed). **The Molecular and Physiological Basis of Nutrient Use Efficiency in Crops**. p. 165-191. 2011.

GUO, W.; ZHAO, R.; FU, R.; BI, N.; WANG, L.; ZHAO, W.; GUO, J.; ZHANG, J. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the development of maize (*Zea mays L.*) grown in three types of coal mine spoils. **Environ Science Pollution Research** 21:3592-3603. 2014.

GUPTA, G.; PARIHAR, S. S.; AHIRWAR, N. K.; SNEHI, S. K.; SINGH, V. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. **Journal of Microbial and Biochemical Technology**, v. 7, n. 2, p. 96-102, 2015.

GYANESHWAR, P.; JAMES, E. K.; REDDY, P. M.; E LADHA, J. *Herbaspirillum* colonization increases and nitrogen accumulation in aluminium-tolerant rice varieties. **New Phytologist**. 154: 131-145. 2002.

HAWKESFORD, M.; HORST, W.; KICHEY, T.; LAMBERS, H.; SCHJOERRING, J.; MØLLER, I. S.; WHITE, P. Functions of macronutrients. In: MARSCHNER, P. Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3. ed. **San Diego: Academic Press**, 2012. cap. 6. p. 135-189.

HAWKESFORD, M. J. An Overview of Nutrient Use Efficiency and Strategies for Crop Improvement. In: HAWKESFORD, M. J.; BARRACLOUGH, P. (Eds). **The Molecular and Physiological Basis of Nutrient Use Efficiency in Crops**. p. 3-19, 2011.

HUERGO, L. F.; MONTEIRO, R. A.; BONATTO, A. C.; RIGO, L. U.; STEFFENS, M. B. R.; CRUZ, L. M.; CHUBATSU, L. S.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F. D.; SALAMONE, I. G. (Ed.) **Azospirillum sp: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008.p.17- 35.

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

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-Inoculation of Soybeans and Common Beans with Rhizobia and Azospirilla: Strategies to Improve Sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, p. 791-801, 2013.

IAEA - International Atomic Energy Agency. **Use of Isotope and Radiation Methods in Soil and Water Management and Crop Nutrition**. Training Course Series No 14. IAEA, Vienna. 2001.

JOSÉ DE CASTRO GAVA, G., WAGNER DE OLIVEIRA, M., DE ALMEIDA SILVA, M., MARQUES JERÔNIMO, E., CRISTINA SODÁRIO CRUZ, J., CESAR OCHEUZE

TRIVELIN, P. Produção de fitomassa e acúmulo de nitrogênio em milho cultivado com diferentes doses de ^{15}N -uréia. **Semina Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 851-862, 2010.

KITUR, B. K.; SMITH, M. S.; BLEVINS, R. L.; FRYE, W. W. Fate of ^{15}N -depleted ammonium nitrate applied to no-tillage and conventional tillage maize. **Agronomy Journal, Madison** v. 76, n. 2, p. 240-242, 1984.

LAMBRECHT, M.; OKON, Y.; VANDE BROEK, A.; VANDERLEYDEN, J. Indoles-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology, London**, v.8, p. 298-300, 2000.

LANA, M. C. DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Rev. Ceres**, v. 59 (3), p. 399-405, 2012.

LANCELLOTTI, R. P. **Estudo do potencial antimicrobiano e do mecanismo de ação de compostos naturais de *Bacillus subtilis* e *Xanthomonas citri* subsp. *citri***. 2016.

LARA CABEZAS, W. A. R., TRIVELIN, P. C. O., KONDÖRFER, G. H., PEREIRA, S. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura de milho, em sistema plantio direto no Triângulo Mineiro (MG). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 363-376, 2000.

LIN, S. Y. HAMEED, A.; SHEN, F.-T.; LIU, Y.-C.; HSU, Y.-H.; SHAHINA, M; LAI, W.-A.; YOUNG, C.-C. Description of *Niveispirillum fermenti* gen. nov., sp. nov., isolated from a fermentor in Taiwan, transfer of *Azospirillum irakense* (1989) as *Niveispirillum irakense* comb. nov., and reclassification of *Azospirillum amazonense* (1983) as *Nitrospirillum amazonense* gen. nov. **Antonie Van Leeuwenhoek**, 105: 1149-1162, 2014.

LOPES, C. V. A., ALBUQUERQUE, G. S. C. D. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em debate**, v. 42, p. 518-534, 2018.

LORENZETTI, F. D. C. **Efeito da antecipação da adubação nitrogenada na pré-semeadura do milho aplicada sobre resíduos culturais de milheto**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2022.

MANJULA, K.; PODILE, A. R. Increase in seedling emergence and dry weight of pigeon pea in the field with chitin-supplemented formulations of *Bacillus subtilis* AF1. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.21, p.1057–1062, 2005.

MARCHIORO, E. **Inoculação de microrganismos promotores do crescimento vegetal na cultura do milho**. 2023.

MATOSO, E. S. **Potencial da mistura de cinco bactérias diazotróficas no desenvolvimento e produção de cana-de-açúcar**. 2020.

MARTINS, M. R., JANTALIA, C. P., REIS, V. M., DÖWICH, I., POLIDORO, J. C., ALVES, B. J. R., ... & URQUIAGA, S. Impact of plant growth-promoting bacteria on grain yield, protein content, and urea- ^{15}N recovery by maize in a Cerrado Oxisol. **Plant and soil**, v. 422, p. 239-250, 2018.

MENECHINI, L. A., LOPES, C. L., DE ANDRADE, E. A., JÚNIOR, L. A. Z. Fontes e doses de adubação nitrogenada na cultura do milho segunda safra. **Revista Cultivando o Saber**, v. 13, n. 1, p. 1-8, 2020.

MONTEIRO, R.A.; SCHMIDT, M.A.; BAURA, V.A.; BALSANELLI, E.; WASSEM, R.; YATES, M.G.; RANDI, M.A.F.; PEDROSA, F.O.; SOUZA, E.M. Early colonization pattern of maize (*Zea mays* L. Poales, Poaceae) roots by *Herbaspirillum seropedicae* (Burkholderiales, Oxalobacteraceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 4, p. 932-937, 2008.

MORENO, A. de L.; KUSDRA, J. F.; PICAZEVICZ, A. A. C. Crescimento do milho em resposta a *Azospirillum brasilense* e nitrogênio. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 5, p. 287-294, ago./set. 2019.

MORENO, A. DE L.; KUSDRA, J. F.; PICAZEVICZ, A. A. C. Rhizobacteria inoculation in maize associated with nitrogen and zinc fertilization at sowing. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 25, n. 2, p. 96-100. 2021.

MORTATE, R. K.; NASCIMENTO, E. F.; GONÇALVES, E. G. S.; LIMA, M. W. P. Resposta do milho (*Zea mays* L.) à adubação foliar e via solo de nitrogênio. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 5, n. 1, p. 1-6, 2018.

MOTTA, A. M. Interação entre bactérias fixadoras de nitrogênio e Fungo FMA micorrízico arbuscular no crescimento do *Schizolobium amazonicum* (Huber) Ducke em condições de campo. 2007.

MOTA, M. R., SANGOI, L., SCHENATTO, D. E., GIORDANI, W., BONIATTI, C. M., DALL'IGNA, L. Fontes estabilizadas de nitrogênio como alternativa para aumentar o rendimento de grãos e a eficiência de uso do nitrogênio pelo milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 2, p. 512-522, 2015.

MÜLLER, T. M.; SANDINI, I. E.; RODRIGUES, J. D.; NOVAKOWISKI, J. H.; BASI, S.; KAMINSKI, T. H.; Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 46, n. 2, p. 210-215, 2016.

MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G.; E LAKSHMINA-RASIMHAN, C. Influence of N fertilization on the isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum* spp. from Indian sugarcane varieties. **Biol. and Fert. of Soils**. 29 (2): 157-164. 1999.

NEUMANN, M.; SANDINI, I. E.; LUSTOSA, S. B. C.; OST, P. R.; ROMANO, M. A.; FALBO, M. K.; PANSERA, E. R. Rendimentos e componentes de produção da planta de milho (*Zea mays* L.) para silagem, em função de níveis de adubação nitrogenada em cobertura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.4, p.418-427, 2005.

NORMAN, M. J. T.; PEARSON, C. J.; SEARLE, P. G. E. The ecology of tropical food crops. 2. ed. Melbourne: **Cambridge University Press**, 430 p, 1995.

OKON, Y., LABANDERA-GONZALEZ, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, n. 12, p. 1591-1601, 1994.

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

OLISKOWSKI, G. **Inoculação de *Pseudomonas thivervalensis* em milho para redução da adubação nitrogenada e aumento da produtividade.** 2021.

OLIVARES, F. L.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Occurrence of the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* spp. in roots, stems and leaves predominantly of Gramineae. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 21, p. 197-200, 1996.

OLIVEIRA, I. J., FONTES, J. R. A., PEREIRA, B. F. F., MUNIZ, A. W. Inoculation with *Azospirillum brasilense* increases maize yield. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, 5 (1), 1-9. 2018.

OLIVEIRA, C. A.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; COTA, L. V.; SANTOS, F. C. DOS; SOUSA, S. M. DE; LANA, U. G. DE P.; OLIVEIRA, M. C.; MATTOS, B. B.; ALVES, V. M. C.; RIBEIRO, V. P.; VASCO JUNIOR, R. Recomendação agrônômica de cepas de *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084) e *Bacillus megaterium* (CNPMS B119) na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2020. 18 p. (Embrapa Milho e Sorgo. **Circular Técnica**, 260).

ORAK, A. B.; DEMIR, S. Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungus and Different Phosphorus Doses Against Cotton Wilt Caused by *Verticillium dahliae* Kleb. **Plant Pathology Journal**. 10: 108-114. 2011.

PANDIAN, S. R., DEEPAK, V., KALISHWARALALU, K., RAMESHKUMAR, N., JEYARA, M. Y., GURUNATHAN, S. Optimization and fed-batch production of PHB utilizing dairywasteand sea water as nutrient sources by *Bacillus megaterium* SRKP-3. **Biores. Tech.**, v. 101, n. 2, p. 705-711, Jan 2010.

PAULA, A. C. S. D. **Diagnóstico estratégico da indústria de fertilizantes nitrogenados no Brasil.** 2020.

PEDROSA, F. O.; MONTEIRO, R. A.; WASSEM, R. Genome of *Herbaspirillum seropedicae* strain SmR1, a specialized deazotrophic endophyte of tropical grasses. **PloS Genetics**, v. 7, n. 5, May, p. 1-10, 2011.

PEREIRA, L. C.; CORREIA, L. V.; BRACCINI, A. L.; MARTELI, D. C. V.; MATERA, T. C.; PEREIRA, R. C.; SUZUKAWA, A. K. Tratamento industrial e pré-inoculação do milho com *Azospirillum* spp. potencial fisiológico das sementes e produtividade. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 18, n. 2, p. 245-256, 2019.

PEREIRA, N. C. M. GALINDO, F. S.; GAZOLA, R. P. D.; DUPAS, E.; ROSA, P. A. L.; MORTINHO, E. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Corn yield and phosphorus use efficiency response to phosphorus rates associated with plant growth promoting bacteria. **Frontiers in Environmental Science**, v. 8, n. 40. P. 1-12, 2020.

PERES, M. S., DA SILVA MAIA, M., VALICHESKI, R. R., DE CARVALHO, E. R., DE OLIVEIRA XAVIER, L., CAIRES, B. C., LELLIS, F. V. Nutritional and bromatological

quality of corn silage inoculated with *Azospirillum* in single and consoriated crops. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 85974–85988, 2020.

PICCININ, G. G.; DAN, L. G. M.; BRACCINI, A. L.; MARIANO, D. C.; OKUMURA, R. S.; BAZO, G. L.; RICCI, T. T. Agronomic efficiency of *Azospirillum brasilense* in physiological parameters and yield components in wheat crop. **Journal of Agronomy**, v.10, n.4, p.132-135, 2011.

PRADO, R. M. **Nutrição de plantas**. São Paulo: Unesp, 2008. 408 p.

QUADROS, P. D. de. **Inoculação de *Azospirillum spp.* em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: UFRGS, 2009. 62p. Dissertação Mestrado.

QUADROS, P. D. DE; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F. DA; VIEIRA, V. M.; ROEHR, D. D.; CAMARGO, F. A. DE O. Desempenho agrônomo a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.

RATTI, N., KUMAR, S., VERMA, H. N., GAUTAM, S. P. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. motia by rhizobacteria, AMF and *Azospirillum* inoculation. **Microbiological research**, v. 156, n. 2, p. 145-149, 2001.

REIS, V. M., RIOS, F. A., BRAZ, G. B. P., CONSTANTIN, J., HIRATA, E. S., BIFFE, D. F. Performance Agrônoma da cana-de-açúcar Submetida à inoculação de *Nitrospirillum amazonense* (BR11145). **Revista Caatinga**, v. 33, n. 4, p. 918-926, 2020.

REIS, V., RIOS, F. A., BRAZ, G. B. P., CONSTANTIN, J., HIRATA, E. S., BIFFE, D. F. Agronomic performance of sugarcane inoculated with *Nitrospirillum amazonense* (BR11145). **Revista Caatinga**, v. 33, p. 918-926, 2020.

RENNIE, D. A., PAUL, E. A., JOHNS, L. E. Natural nitrogen-15 abundance of soil and plant samples. **Canadian Journal of soil Science**, Manitoba, v. 56, n.1, p. 43-50, 1976.

RINALDI, L. F. **Eficiência de uso de ¹⁵N-ureia tratada com inibidores de urease em associação com substâncias húmicas pela cultura do milho**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

ROCKENBACH, M. D. A.; ALVAREZ, J. W. R.; FOIS, D. A. F.; TIECHER, T.; KARAJALLO, J. C.; TRINIDAD, S. A. Eficiência da aplicação de *Azospirillum brasilense* associado ao nitrogênio na cultura do milho. **Acta Iguazu**, v. 6, n. 1, p. 33-44, 2017.

ROGERI D. A. **Suprimento e perdas de nitrogênio no solo decorrentes da adição de cama de aves**. [Dissertação]. Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina; 2010.

RONG-HUA, L. I.; PEI-POL, G. U. O.; BAUMZ, M.; GRANDO, S.; CECCARELLI, S. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. **Agricultural Sciences in China**, Oxford, v. 5, n. 10, p. 551-557, 2006.

SANTOS, D. R. D., GATIBONI, L. C., KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 38, p. 576-586, 2008.

SCHRÖDER, J. J.; NEETESON, J. J.; OENEMA, O.; STRUIK, P. C. Does the crop or the soil indicate how to save nitrogen in maize production? **Reviewing the state of art. Field Crops Research**, Amsterdam, v. 66, n. 2, p. 151-164, 2000.

SCIVITTARO, W. B., MURAOKA, T., BOARETTO, A. E., TRIVELIN, P. C. O. Utilização de nitrogênio de adubos verde e mineral pelo milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 917-926, 2000.

SILVA, E. C.; MURAOKA, T.; BUZETTI, S.; GUIMARÃES, G. L. Doses e épocas de aplicação e utilização do nitrogênio (¹⁵N) pelo milho sob plantio direto. In: XXIX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 2003, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: SBSCS, 2003. CD-ROM.

SILVA, L. E. B.; SILVA, J. C. S.; SOUZA, W. C. L.; LIMA, L. L. C. L.; SANTOS, R. L. V. Desenvolvimento da cultura do milho (*Zea mays* L.): revisão de literatura. **Diversitas Journal**. v. 5, n. 3, p.1636-1657. 2020. 10.17648/diversitas-journal-v5i3-869.

SILVA, O. H. D. **Efeito do *Azospirillum brasilense* na eficiência do uso de nitrogênio em híbridos de milho em diferentes sucessões de cultura.** 2024.

SILVA, S., K., NASCIMENTO, K. P. M., RIBEIRO, O. G., DINIZ, P. O., DOS SANTOS, V. J., DE ANDRADE, F. H. A., DE SOUSA, T. P. Efeito da adubação nitrogenada no crescimento inicial do milho (*Zea mays* L). **Caderno Pedagógico**, v. 22, n. 5, p. e14838-e14838, 2025.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. San Diego, California: Academic Press, 1997. 604p.

SOMERS, E.; PTACEK, D.; GYSEGOM, P.; SRINIVASAN, M.; VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum brasilense* produces the auxin-like phenylacetic acid by using the key enzyme for indole-3-acetic acid biosynthesis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 1803-1810, 2005.

SPAGNOLETTI, F.; LAVADO, R. S. The Arbuscular Mycorrhiza *Rhizophagus intraradices* Reduces the Negative Effects of Arsenic on Soybean Plants. **Agronomy** 5: 188-199. 2015.

STEENHOUDT, O., VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS microbiology reviews**, v. 24, n. 4, p. 487-506, 2000.

STOFFEL, S. C. G.; SOARES, C. R. F. S.; MEYER, E.; LOVATO, P. E.; GIANCHINI, A. J. Yield increase of corn inoculated with a commercial arbuscular mycorrhizal inoculant in Brazil. **Ciência Rural**, v. 50, n. 7, e20200109, 2020.

TAJINI, F.; TRABELSI, M.; DREVON, J. J. Combined inoculation with *Glomus intraradices* and *Rhizobium tropici* CIAT899 increases phosphorus use efficiency for symbiotic nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Saudi Journal of Biological Sciences** 19: 157-163. 2012.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; GALINDO, F. S. **Inoculação de bactérias com foco na fixação biológica de nitrogênio e promoção de crescimento vegetal**. Tópicos em Ciência do Solo. 1^a ed.: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2019, v. 10, p. 577-648.

TERRA, L. A. Genômica funcional de *Nitrospirillum amazonense* em interação com a cana-de-açúcar. **Anais da Semana Científica Johanna Döbereiner**, 2015.

TIMMONS, D. R.; BAKER, J. L. Fertilizer management effect on recovery of labeled nitrogen by continuous no-till. **Agronomy Journal, Madison**, v. 84, n. 5, p. 490-496, 1992.

TIMMONS, D. R.; BAKER, J. L. Recovery of point-injected labeled nitrogen by corn as affected by timing, rate and tillage. **Agronomy Journal**, v. 83, p. 850-857, 1991.

TIMMONS, D. R.; CRUSE, R. M. Effect of fertilization method and tillage on nitrogen-15 recovery by corn. **Agronomy Journal, Madison**, v. 82, n. 4, p. 777-784, 1990.

TOLLENAAR, M.; DWYER, L. M. Physiology of maize. In: SMITH, D. L.; HAMEL, C. (Ed.). **Crop yield, physiology and processes**. Berlin: Springer-Verlag, cap. 5. p.169-201, 1999.

TRENTINI, D. B. **Identificação dos alvos celulares das proteínas de transdução de sinal PII do diazotrófico de vida livre *Azospirillum amazonense***. 2010.

TRIVELIN, P. C. O. **Isótopos que não emitem radiações: para que servem? Visão da Agroindústria**. Sertãozinho, São Paulo, v. 12, p. 25-26, set. 2004.

TRIVELINN, P. C. O.; **Enriquecimento isotópico de ¹⁵N por cromatografia de troca iônica**. 1976. 102p. Dissertação de (Mestrado em Energia Nuclear na Agricultura) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1976.

USDA. **Grain and Feed Update: Brazil**. 2022. Disponível em: <<https://usdabrazil.org.br/relatorios/>> Acesso em: 10 set. 2022.

VARGAS V. P. **Manejo da adubação nitrogenada na recuperação de estresses em milho**. [dissertação]. Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina; 2010.

VARY, P. S.; BIEDENDIECK, R.; FUERCH, T.; MEINHARDT, F.; ROHDE, M.; DECKWER, W. D.; JAHN, D. *Bacillus megaterium* from simple soil bacterium to industrial protein production host. **App. Micro. and Biotech.**, v. 76, n. 5, p. 957-967, Oct 2007.

VERONEZI, S. D. F.; RIBEIRO, L. M.; CECCON, G. Uso de *Azospirillum brasilense* em milho safrinha solteiro e consorciado com *Brachiaria ruziziensis*. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 12, n. 4, p. 349-360, 2018.

VIANA, M. M. **Produtividade e eficiência do uso do nitrogênio na cultura do milho inoculado com *Azospirillum brasilense***. 2017.

VIEIRA, R. M. **Desenvolvimento inicial do milho com inoculação de bactérias promotoras de crescimento**. 2020.

WU, Q.; HUANG, H.; HU, G.; CHEN, J.; HO, K.; CHEN, G.-Q.; LEEUWENHOEK, A. V. Production of poly-3-hydroxybutyrate by *Bacillus sp* JMa cultivated in molasses media. **Int. J. of Gen. and Mol. Micro.**, v. 80, n. 2, p. 111-118, Oct 2001.

XIAO-YING G, CHUN-E H, TAO L, ZHU O. 2015. Effect of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth of greenhouse tomato and rhizosphere microbial community. **Journal of Northeast Agricultural University** 22:32-42.

YONEYAMA, T. Characterization of natural ¹⁵N abundance of soils. In: BOUTTON, T. W.; YAMASAKI, S. I. **Mass spectrometry of soils**. New York, p. 205-223, 1996.