

Sete Lagoas, MG / Novembro, 2024

Desenvolvimento e validação da eficiência agrônômica de inoculantes à base de estirpes de *Azospirillum* na cultura do milho



Ivanildo Evódio Marriel⁽¹⁾, Christiane Abreu de Oliveira Paiva⁽¹⁾, Antônio Carlos de Oliveira⁽¹⁾, Eliane Aparecida Gomes⁽¹⁾, Flavio Dessaune Tardin⁽¹⁾, Rodrigo Veras da Costa⁽¹⁾, Luiza Vasconcelos Tavares Correa⁽²⁾, Ubiraci Gomes de Paula Lana e ⁽³⁾Denise Pacheco dos Reis⁽⁴⁾.

⁽¹⁾ Pesquisadores, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG., Pesquisadora, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, ⁽³⁾ Analista, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, ⁽⁴⁾ Bolsista, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

INTRODUÇÃO

O milho e a soja são as principais commodities do agronegócio brasileiro, com produção estimada de 263 milhões de toneladas de grãos, em uma área de 67 milhões de hectares (Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, 2024). No Brasil, essas culturas são destinadas principalmente à cadeia produtiva da agroindústria de proteína animal, tanto para mercados interno quanto externo, e representam parcela significativa do superávit da balança comercial do País.

A participação relevante deste setor no Produto Interno Bruto (PIB) nacional deve-se, em parte, à incorporação de modernas tecnologias de produção e ocupação de novas fronteiras agrícolas, que incluem o uso intensivo de fertilizantes sintéticos nitrogenados, principalmente no bioma Cerrado. Nesses casos, ganhos de produtividade agrícola com base nessa prática de cultivo tornam-se altamente dependentes de insumos importados, que oneram custos de produção agrícola, tornando-os vulneráveis às oscilações mercado externo, além de seus impactos ambientais adversos sobre os agroecossistemas. Considera-se que a síntese de uma tonelada de amônia consome em torno de 1,3 tonelada de óleo, ou equivalente em energia fóssil (Ladha; Reddy, 2003). Estima-se que a produção e distribuição de fertilizantes nitrogenados sintéticos sejam responsáveis pela emissão de 10 toneladas

de dióxido de carbono (CO₂) para cada tonelada de nitrogênio (N) consumido. Além de seus custos energéticos para produção e distribuição, os fertilizantes nitrogenados apresentam baixa eficiência de utilização pelas plantas (Coelho, 2006).

Nesse contexto, o desenvolvimento e a adoção de tecnologias de bases biológicas constituem alternativas altamente desejáveis e comprovadamente viáveis para vários processos biotecnológicos, como fontes de genes, processos ou produtos para uma agropecuária sustentável (Bomfim et al., 2021; O'Callaghan et al., 2022; Verma et al., 2023). No caso do nitrogênio, a fixação biológica mediada pela enzima nitrogenase, que transforma o N₂ atmosférico em formas assimiláveis pelas plantas (Reis et al., 2006), utiliza energia de fonte renovável e contribui para mitigar impactos ambientais negativos da atividade agrícola.

Nas plantas não leguminosas, a partir das descobertas pioneiras da associação dessas plantas com bactérias diazotróficas (Döbereiner; Day, 1976; Döbereiner et al., 1976; Döbereiner; Pedrosa, 1987), o gênero *Azospirillum* tornou-se amplamente estudado, com mais de duas dezenas de espécies descritas atualmente, isoladas a partir de ambientes diversos do globo. Os efeitos benéficos dessa bactéria para o crescimento vegetal envolvem mecanismos múltiplos, tais como fixação biológica do nitrogênio atmosférico,

produção de fitormônios, enzimas do ciclo de Krebs e de nitrogênio, dentre outros (Bashan; De-Bashan, 2010; Fukami et al., 2018). Nas últimas décadas, vários trabalhos têm enumerado e discutido detalhadamente os avanços científicos e práticos sobre a tecnologia de inoculação com microrganismos, bem como sua viabilidade econômica com ganhos de produtividade de até 30% (Okon; Labandera Gonzales, 1994; Reis et al., 2000; Baldani; Baldani, 2005; Hungria et al., 2010; Cassán; Díaz-Zorita, 2016; Bomfim et al., 2021). Atualmente, inoculantes contendo *Azospirillum* são considerados uma estratégia importante para suprimento de N para a cultura do milho, independentemente da disponibilidade do nutriente no solo (Galindo et al., 2022; Hungria et al., 2022).

É importante salientar que a eficiência de interações planta/bactéria depende do genótipo do macro e do microssimbionte e da formulação do produto, além de fatores abióticos. Entretanto, a baixa especificidade bactéria-planta, ou a inexistência dela, (Pereg et al., 2016) abre a possibilidade de ampliar o uso desses inoculantes para diferentes espécies vegetais, mediante validação.

O objetivo deste trabalho é avaliar e validar a eficiência agrônoma de inoculantes com diferentes estirpes de *Azospirillum* na cultura do milho. Neste trabalho, destaca-se o mérito social, econômico e ambiental em conformidade com a missão da Embrapa e ao Objetivo do Desenvolvimento Sustentável (ODS), de número 12 "Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis" meta 12.a "Apoiar países em desenvolvimento a fortalecer suas capacidades científicas e tecnológicas para mudar para padrões mais sustentáveis de produção e consumo" considerando que abrange processo biológico como substituto/complemento do uso eficiente de fertilizante químicos nitrogenados e consequente mitigação de impactos ambientais negativos.

Ativação e teste de pureza das culturas das estirpes preservadas sob óleo mineral

As culturas das estirpes de *Azospirillum*, BDF12, BDF23, BDF145.1, CMS05, CMS07, CMS11, CMS18, CMS1626, CMS1630, CMS2131, CMS2142, CMS2148, CMS2153, obtidas da Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo, foram estriadas por esgotamento em placas de Petri contendo os meios

de cultura batata-malato (Dobereiner et al., 1995). Após 5 dias de crescimento, colônias isoladas foram transferidas para frascos tipo penicilina contendo 5 mL de meio NFb semissólido (Dobereiner et al., 1999), sem N, em triplicata, e incubados a 30 °C por 72 horas. Após esse período, avaliou-se a formação de película indicativa de crescimento de bactérias fixadoras de nitrogênio (Dobereiner et al., 1995).

Preparo dos inoculantes e aplicação nas sementes

Utilizou-se como inoculante uma mistura de suspensões de células de cada estirpe cultivada separadamente, em meio de cultura soja tripticaseína, durante 5 dias, na temperatura de 29 °C, sob agitação. Após esse período, as culturas enriquecidas foram centrifugadas e ajustadas para 1,00 DO, a 540 nm, equivalente a 10⁸ Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL). Essa densidade de células viáveis foi determinada pelo método de diluição, utilizando-se meio batata-malato (Dobereiner et al., 1995).

A inoculação das estirpes de *Azospirillum* foi efetuada pela aplicação de cada suspensão de células às sementes à base de 150 mL/60.000 sementes. Todos os tratamentos foram testados quanto à eficiência agrônoma na cultura do milho, em ensaios de campo conduzidos pela equipe da Embrapa Milho e Sorgo.

Validação da eficiência agrônoma de estirpes de *Azospirillum* em milho

Para validação da eficiência agrônoma dos inoculantes à base de *Azospirillum*, foram conduzidos sete ensaios em condições de campo, sendo cinco deles em Sete Lagoas, MG e dois na região de Santo Antônio do Goiás, GO.

Em Sete Lagoas, os ensaios foram conduzidos em dois ambientes: solo de cerrado (safras 2019/2020, 2020/2021 e 2021/2022) e de várzea (safras 2020/2021 e 2021/2022), na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, localizada na latitude 19°28'4"S, e longitude 44°15'08"W, com altitude média de 730 m. O município apresenta temperatura média anual de 22,1 °C e precipitação média de 1.340 mm, com estação chuvosa entre outubro e março e estação seca de abril a setembro. Os solos utilizados são classificados como latossolo vermelho escuro distrófico, textura argilosa, fase cerrado (cerrado) e hidromórfico

com textura argilosa (várzea), cujas características químicas estão apresentadas na Tabela 1.

Já em Santo Antônio de Goiás, os experimentos foram conduzidos nas safras 2019/2020 e 2021/2022, na área experimental da Embrapa Arroz e Feijão, com latitude 16°29'8"S e longitude 49°18'32"W; 766 m de altitude, sendo o clima do tipo tropical savana, megatérmico, classificado por Köppen como clima Aw, com temperatura média

anual de 23,1 °C. O município apresenta regime pluvial bem definido, ou seja, período chuvoso de outubro a abril e período seco de maio a setembro. A precipitação pluvial média anual é de 1.472,8 mm, e a umidade relativa do ar, média anual, é de 70%. O solo utilizado é classificado como Latossolo Vermelho-Escuro, textura argilosa, fase cerradão, cujas características químicas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados de análises químicas dos solos utilizados para os experimentos com inoculantes à base de estirpes de *Azospirillum* em condições de campo em Sete Lagoas, MG e Santo Antônio de Goiás, GO.

Características	Sete Lagoas, MG		Santo Antônio de Goiás, GO
	Cerrado	Várzea	
pH _{H2O}	6,20	6,20	6,00
P _{Mehlich-1} (mg dm ⁻³)	46,90	58,20	15,90
K (mg dm ⁻³)	106,80	122,70	257,30
Ca (cmol _c dm ⁻³)	5,40	6,33	3,89
Mg (cmol _c dm ⁻³)	1,18	0,76	1,67
Al (cmol _c dm ⁻³)	0,00	0,00	0,01
H+Al (cmol _c dm ⁻³)	1,70	1,80	9,68
SB* (cmol _c dm ⁻³)	6,86	7,40	0,86
V** (%)	80,10	80,40	64,30
MO*** (dag kg ⁻¹)	3,91	1,38	3,42

*SB: soma de bases. **V: saturação de bases. ***MO: matéria orgânica (Silva et al., 1998).

Nos diferentes ensaios, utilizou-se o genótipo KWS9006 Pro2 e uma adubação básica de plantio constituída de 500 kg ha⁻¹ do formulado 4-30-16 e 20 kg ha⁻¹ FTE BR12, equivalentes a 20 kg ha⁻¹ N, 150 kg ha⁻¹ P₂O₅ e 80 kg ha⁻¹ K₂O, nas formas de ureia, superfosfato triplo e cloreto de potássio, respectivamente. Os experimentos foram conduzidos sob três níveis de nitrogênio (20, 60 e 120 kg ha⁻¹ N), na forma de ureia, sendo 1/3 no plantio e 2/3 em cobertura. Utilizou-se o delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições, em parcelas subdivididas, sendo N nas parcelas e inoculante nas subparcelas.

No total, foram avaliadas 13 diferentes estirpes de *Azospirillum* pertencentes à Coleção de Microrganismos Multifuncionais e Fitopatogênicos da Embrapa Milho e Sorgo (CMMF). Em todos os experimentos, foram utilizados o inoculante comercial de *Azospirillum* (AbV5-AbV6) e o controle não inoculado. Cada parcela foi constituída de seis linhas de 5 m de comprimento, espaçadas de 0,7 m

entre linhas e 0,20 m entre plantas, sendo a parcela útil constituída de quatro linhas centrais com 4 m de comprimento. Para avaliar a produtividade de grãos, as espigas foram colhidas nas quatro parcelas centrais de cada tratamento no final do ciclo da cultura (150 dias após o plantio). Retirou-se toda a palha das espigas, e procedeu-se à debulha dos grãos de cada parcela. Posteriormente, foi determinado o peso de grãos, o qual foi corrigido para umidade de 13,5% sendo expresso em kg ha⁻¹.

Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade das variâncias. Em seguida, foi feita a análise de variância (ANOVA) e a comparação de médias pelo teste de Scott-Knott, considerando o nível de 10% de significância. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software SISVAR, versão 5.6 (Ferreira, 2011).

Ensaio conduzido em Sete Lagoas, MG

Nas duas áreas experimentais em Sete Lagoas, cerrado e várzea, observou-se que a análise do efeito isolado das fontes de variação (nível de N e inoculantes) apresentou diferenças significativas ($p < 0,1$) sobre a produtividade de grãos, sendo que a interação entre essas duas fontes foi não significativa, independentemente da área avaliada.

No solo de cerrado, na safra 2019/2020, todos os oito tratamentos envolvendo inoculação apresentaram produtividade significativamente superior à observada com o tratamento controle sem inoculação, sendo similares ao tratamento com o inoculante comercial utilizado como referência (Tabela 2). De modo similar ao observado no ensaio anterior, houve diferenças significativas ($p < 0,1$) na safra 2020/2021, no mesmo solo, com maior

produtividade para as plantas de milho inoculadas com as estirpes BDF12, BDF23 e CMS2153 diferindo dos demais tratamentos, sendo superior ao controle e ao inoculante comercial (Tabela 2). Na safra de 2021/2022, foram observadas diferenças entre os tratamentos. Todos os tratamentos inoculados foram estatisticamente superiores ao controle não inoculado, exceto a estirpe BDF145.1 (Tabela 2).

No solo de várzea, a produtividade foi menor que no solo do cerrado, com destaque para as estirpes BDF12 e CMS2148 na safra 2020/2021 e para a estirpe CMS2131 na safra 2021/2022, que apresentaram produtividade média superior ao controle não inoculado (Tabela 3).

Tabela 2. Produtividade de grãos de milho (kg ha^{-1}) em função da inoculação de *Azospirillum*, independentemente da adição de nitrogênio, na região de Sete Lagoas, MG (Ccerrado). Valores médios de quatro repetições.

Produtividade de milho (kg ha^{-1}) ^a em Sete Lagoas, MG (Cerrado).				
Inoculante	Safra	Inoculante	Safra	
	2019/2020		2020/2021	2021/2022
CMS05	6462,05 a	-	-	-
CMS07	6303,57 a	BDF12	7761,98 a	-
CMS11	5783,48 a	BDF23	8056,56 a	6576,63 a
CMS18	6029,01 a	BDF145.1	7119,12 b	5711,80 b
CMS1626	6392,11 a	CMS2131	7158,71 b	6294,64 a
CMS2142	6211,30 a	CMS2142	7263,76 b	6047,61 a
CMS1630	6089,28 a	CMS2148	6986,87 b	6324,40 a
CMS2148	5935,26 a	CMS2153	7916,77 a	6255,20 a
Comercial	6116,81 a	Comercial	7442,87 b	6231,39 a
Controle ^b	5179,31 b	Controle	7453,33 b	5702,38 b

^aMédias seguidas pelas mesmas letras minúsculas em uma coluna não diferem significativamente pelo teste Scott-Knott ($p < 0,1$).

^bControle não inoculado.

Considerando os experimentos realizados em Sete Lagoas, foi observado incremento de produtividade de grãos de até 1.283 kg ha⁻¹, com

Produtividade de milho (kg ha ⁻¹) ^a em Sete Lagoas, MG (Várzea).		
Inoculante	Safr	
	2020/2021	2021/2022
BDF12	4900,51 a	-
BDF23	4188,18 b	3837,23 b
BDF145.1	4194,81 b	4099,15 b
CMS2131	4366,85 b	4158,34 a
CMS2142	4154,91 b	4015,06 b
CMS2148	4584,51 a	3939,60 b
CMS2153	4086,34 b	3946,09 b
Comercial	4736,76 a	4323,35 a
Controle ^b	4334,05 b	4008,49 b

^aMédias seguidas pelas mesmas letras minúsculas em uma coluna não diferem significativamente pelo teste Scott-Knott ($p < 0,1$). ^bControle não inoculado.

Tabela 4. Produtividade de grãos de milho (kg ha⁻¹) em função da inoculação de diferentes estirpes de *Azospirillum* e diferentes níveis de adubação nitrogenada na região de Santo Antônio de Goiás, GO. Valores médios de quatro repetições.

Produtividade de milho (kg ha ⁻¹) ^a em Santo Antônio de Goiás, GO, Safr 2019/2020.			
Inoculante	Níveis de N (kg ha ⁻¹)		
	20	60	120
CMS05	8142,85 Bb ^b	11880,95 Aa	11930,80 Aa
CMS07	8890,62 Bb	10664,06 Aa	10957,58 Aa
CMS11	9962,79 Ba	10882,81 Aa	11487,72 Aa
CMS18	8580,35 Bb	11104,16 Aa	11393,97 Aa
CMS1626	8671,13 Cb	11285,71 Ba	12693,08 Aa
CMS2142	10466,51 Aa	11292,41 Aa	11559,52 Aa
CMS1630	8629,46 Cb	10767,85 Ba	12180,05 Aa
CMS2148	9226,19 Bb	11070,31 Aa	11599,33 Aa
Comercial	8687,50 Bb	10839,28 Aa	11386,16 Aa
Controle^b	8238,83 Bc	10958,70 Aa	11562,50 Aa

^aMédias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem significativamente pelo teste Scott-Knott ($p < 0,1$). ^bControle não inoculado.

destaque para a inoculação com a estirpe CMS05, na safr 2019/2020, em condições de cerrado, em comparação ao controle não inoculado, o que corresponde a ganhos de, aproximadamente, 25% de produtividade.

Tabela 3. Produtividade de grãos de milho (kg ha⁻¹) em função da inoculação de *Azospirillum*, independentemente da adição de nitrogênio na região de Sete Lagoas, MG (várzea). Valores médios de quatro repetições.

Ensaio conduzido em Santo Antônio de Goiás, GO

Nas duas safras conduzidas em Santo Antônio de Goiás, GO, (2019/2020 e 2021/2022), observou-se diferença significativa ($p < 0,1$) entre os tratamentos para a fonte de variação (nível de N), com valores de produtividade mais elevados na presença de 120 kg ha⁻¹ de N. Em relação à fonte inoculante, não se observaram diferenças significativas entre os tratamentos, exceto para 20 kg ha⁻¹ de N, na safr 2019/2020, e para 120 kg ha⁻¹ de N, na safr 2021/2022, embora tenha sido observada significância para a interação entre nível de N e inoculante.

Como observado na Tabela 4 (safr 2019/2020), a aplicação dos inoculantes CMS11 e CMS2142 resultou em aumento da produtividade em

comparação ao tratamento controle sem inoculação e ao tratamento com inoculante comercial utilizado como referência, no nível de 20 kg ha⁻¹. Nos níveis de 60 kg ha⁻¹ e 120 kg ha⁻¹, as inoculações com as diferentes estirpes de *Azospirillum* apresentaram comportamento similar ao tratamento controle sem inoculação e ao tratamento com inoculante comercial utilizado como referência.

Por outro lado, na safra 2021/2022, a aplicação das estirpes BDF145.1 e CMS2148 resultou em um significativo incremento da produtividade em comparação ao tratamento controle sem inoculação e ao tratamento com inoculante comercial utilizado como referência, no nível de 120 kg ha⁻¹ (Tabela 5).

Tabela 5. Produtividade de grãos de milho (kg ha⁻¹) em função da inoculação de diferentes estirpes de *Azospirillum* e diferentes níveis de adubação nitrogenada na região de Santo Antônio de Goiás, GO. Valores médios de quatro repetições.

Produtividade de milho (kg ha ⁻¹) ^a em			
Santo Antônio de Goiás, GO, Safra 2021/2022.			
Inoculantes	Níveis de N (kg ha ⁻¹)		
	20	60	120
BDF23	7214,13 Ba ^b	8697,96 Aa	8753,45 Ab
BDF145.1	6958,02 Bb	9068,33 Aa	9407,19 Aa
CMS2131	7099,32 Ba	8512,21 Aa	8029,19 Ab
CMS2142	7049,13 Ba	8443,96 Aa	8349,30 Ab
CMS2148	6969,85 Cb	8066,97 Ba	9703,47 Aa
Comercial	6397,75 Bb	8342,12 Aa	8472,12 Ab
Controle^b	6985,14 Bb	8878,59 Aa	8451,83 Ab

^aMédias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem significativamente pelo teste Scott-Knott ($p < 0,1$). ^bControle não inoculado.

Considerando as duas safras conduzidas em Santo Antônio de Goiás, podem-se observar incrementos de produtividade de até 27%, proporcionados, por exemplo, pela inoculação da estirpe CMS2142, na safra 2019/2020, com nível de 20 kg ha⁻¹ de N, com ganhos de produtividade de 2.228 kg ha⁻¹ em relação ao controle não inoculado.

O milho está entre as grandes culturas produzidas mundialmente, e atualmente o Brasil é o terceiro maior produtor desse grão. Na tentativa de elevar cada vez mais a produtividade dessa cultura e minimizar os impactos ambientais, é crescente a busca por tecnologias sustentáveis. O uso de bactérias fixadoras de nitrogênio, como estirpes do gênero *Azospirillum*, é uma alternativa viável para garantir a sustentabilidade nos agroecossistemas, suprimindo as demandas agrícolas e mantendo os altos padrões produtivos. Entre os benefícios positivos do uso desses microrganismos, pode-se citar o desenvolvimento de raízes pela produção de fitormônios (Hungria, 2011; Fukami et al., 2018), que é um dos fatores responsáveis pelos ganhos de

produtividade de milho e conseqüentemente pela redução de fertilizantes nitrogenados (Hungria et al., 2010). Assim, cada vez mais novos bioprodutos têm sido estudados e produzidos, na tentativa de se encontrar estirpes para inoculantes que sejam mais eficientes em aumentar a produtividade e reduzir os custos de produção.

Neste trabalho, foi possível observar que para algumas estirpes utilizadas, independentemente do nível de N, o desempenho foi similar ou superior ao produto comercial utilizado como controle. Quando -sese leva em conta o nível de N, também é possível verificar uma interação entre a estirpe inoculada e esse fator. Efeitos positivos de produtividade já foram relatados por diferentes autores, em que a associação do inoculante aumentou a produtividade de grãos de milho de 3% a 30%, em comparação com a aplicação de N sem inoculação (Hungria et al., 2010; Caires et al., 2020; Galindo et al., 2020). Esses dados reforçam a ideia de que o fertilizante químico não deve ser totalmente substituído pelo inoculante em gramíneas, porque a fixação biológica de nitrogênio pelos microrganismos contribui com uma

parte do N necessário para a plena produtividade da planta (Fukami et al., 2016). As diferenças de produtividade observadas nos locais de condução dos experimentos podem ser atribuídas, em parte, às características edafoclimáticas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De modo geral, os resultados demonstram que a prática de inoculação de milho com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico do gênero *Azospirillum* proporciona aumento de produtividade de grãos, independentemente da disponibilidade de nitrogênio no solo.

O uso de *Azospirillum*, em particular as estirpes CMS05, CMS07, CMS011, CMS1626, CMS2142 e CMS2148, proporcionou ganhos de produtividade em milho de até 27%, correspondendo a incrementos de até 2.228 kg ha⁻¹ em relação ao cultivo sem inoculação, dependendo das características edafoclimáticas e do inoculante utilizado.

REFERÊNCIAS

- ACOMPANHAMENTO da Safra Brasileira [de] Grãos, v. 10 - safra 2023/2024: décimo levantamento: setembro 2024. Brasília, DF: Conab, 2024. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 23 set. 2024.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, n. 3, p. 549-579, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0001-37652005000300014>.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth: a critical assessment. In: SPARKS, D. L. (ed.). **Advances in Agronomy**. London: Academic Press, 2010. v. 108, p. 77-136.
- BOMFIM, C. A.; COELHO, L. G. F.; VALE, H. M. M. do; MENDES, I. D.; MEGIAS, M.; OLLERO, M. F. J.; REIS, F.B. dos. Brief history of biofertilizers in Brazil: from conventional approaches to new biotechnological solutions. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 2215-2232, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00618-9>.
- CAIRES, E. F.; BINI, A. R.; BARÃO, L. F. C.; HALISKI, A.; DUART, V. M.; RICARDO, K. S. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization for no-till cereal production. **Agronomy Journal**, v. 113, n. 1, p. 560-576, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/agj2.20488>.
- CASSÁN, F.; DIAZ-ZORITA, M. *Azospirillum* spp. in current agriculture: from the laboratory to the field. **Soil Biology and Biochemistry**, v.103, p. 117-130, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.08.020>.
- COELHO, A. M. **Nutrição e adubação do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 10 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 78).
- DÖBEREINER, J.; ANDRADE, V. de O.; ALCANTARA, I. **Protocolo da Embrapa Agrobiologia para produção de inoculante para leguminosas**. Seropédica: Embrapa-CNPAB, 1999. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 97).
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Seropédica: Embrapa-CNPAB, 1995. 60 p.
- DÖBEREINER, J.; DAY, J. M. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN FIXATION, 1976, Pullman. **Proceedings...** Pullman: Washington State University Press, 1976. p. 518-538.
- DÖBEREINER, J.; MARRIEL, I. E.; NERY, M. Ecological distribution of *Azospirillum lipoferum* Beijerinck. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 22, n. 10, p. 1464-1473, 1976. DOI: <https://doi.org/10.1139/m76-217>.
- DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F.O. **Nitrogen-fixing bacteria in non-leguminous crop plants**. Madison: Springer Verlag, 1987.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1036-1042, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>.
- FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum*

brasilense. **AMB Express**, v. 6, article 3, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s13568-015-0171-y>.

FUKAMI, J.; CERZIN, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, article 73, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>.

GALINDO, F. S.; RODRIGUES, W. L.; FERNANDES, G. C.; BOLETA, E. H. M.; JALAL, A.; ROSA, P. A. L.; BUZZETTI, S.; LAVRES, J.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Enhancing agronomic efficiency and maize grain yield with *Azospirillum brasilense* inoculation under Brazilian savannah conditions. **European Journal of Agronomy**, v. 134, 126471, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2022.126471>.

GALINDO, F. S.; PAGLIARI, P. H.; BUZZETTI, S.; RODRIGUES, W. L.; SANTINI, J. M. K.; BOLETA, E. H. M.; ROSA, P. A. L.; NOGUEIRA, T. A. R.; LAZARINI, E.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Can silicon applied to correct soil acidity in combination with *Azospirillum brasilense* inoculation improve nitrogen use efficiency in maize? **PLoS ONE**, v. 15, n. 4, e0230954, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230954>.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).
HUNGRIA, M.; BARBOSA, J. Z.; RONDINA, A. B. L.; NOGUEIRA, M. A. Improving maize sustainability with partial replacement of N fertilizers by inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Agronomy Journal**, v. 114, n. 5, p. 2969-2980, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/agj2.21150>.

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, p. 413-425, 2010.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>.

LADHA, J. K.; REDDY, P. M. Nitrogen fixation in rice systems: state of knowledge and future prospects. **Plant and Soil**, v. 252, p. 151-167, 2003.
DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1024175307238>.

O'CALLAGHAN, M.; BALLARD, R. A.; WRIGHT, D. Soil microbial inoculants for sustainable

agriculture: limitations and opportunities. **Soil Use & Management**, v. 38, n. 3, p. 1340-1369, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.1111/sum.12811>.

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

PEREG, L.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plants. **Plant and Soil**, v. 399, p. 389-414, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-015-2778-9>.

REIS, V. M.; REIS JÚNIOR, F. B.; QUESADA, D.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Biological nitrogen fixation associated with tropical pastures. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN FIXATION WITH NON LEGUMES, 8., 2000, Sydney. **Abstracts...** Sydney: Unesco, 2000. p. 56-57.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L. M.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. (ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 153-174.

SILVA, F. C. da; EIRA, P. A. da; BARRETO, W. de O.; PEREX, D. V.; SILVA, C. A. **Manual de métodos de análises químicas para avaliação da fertilidade do solo**. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPS, 1998. 56 p. (Embrapa-CNPS. Documentos, 3).

VERMA, P.; MEENA, R.; SUPRIYA, K. R.; SINGH, S. Microbial-inoculants for sustainable agriculture. **Vigyan Varta**, v. 4, n. 7, p. 91-94, 2023.

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Maria Marta Pastina*

Secretário-executivo: *Antônio Carlos de Oliveira*

Membros: *Cláudia Teixeira Guimarães, Mônica Matoso Campanha, Roberto dos Santos Trindade e Maria Cristina Dias Paes*

Circular Técnica 292

ISSN 1679-1150

Novembro, 2024

Edição executiva: *Márcio Augusto Pereira do Nascimento*

Revisão de texto: *Antonio Claudio da Silva Barros*
Normalização bibliográfica: *Rosângela Lacerda de Castro (CRB 6/2749)*

Projeto gráfico: *Leandro Sousa Fazio*

Diagramação: *Márcio Augusto Pereira do Nascimento*

Tiragem: 0.000 exemplares

Publicação digital: PDF



**Ministério da
Agricultura e Pecuária**

Todos os direitos reservados à Embrapa.