



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

**INOCULAÇÃO DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* E DOSES DE  
NITROGÊNIO, VISANDO PRODUÇÃO DE ETANOL E TEOR DE  
PROTEÍNA NOS GRÃOS, EM MILHO CULTIVADO NA  
ENTRESSAFRA SOB BAIXA LATITUDE**

**Palmas –TO  
2018**

**BRUNA DE PÁDUA MARCOLINI**

**INOCULAÇÃO DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* E DOSES DE  
NITROGÊNIO, VISANDO PRODUÇÃO DE ETANOL E TEOR DE  
PROTEÍNA NOS GRÃOS, EM MILHO CULTIVADO NA  
ENTRESSAFRA SOB BAIXA LATITUDE**

**Dissertação apresentada ao programa de  
Pós-Graduação em Agroenergia da  
Universidade Federal do Tocantins  
(UFT), como requisito para a obtenção  
do título de mestre em Agroenergia.**

**Orientador: Dr. Joênes Mucci Peluzio**

**Palmas –TO**

**2018**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

M321i MARCOLINI, BRUNA DE PÁDUA .  
INOCULAÇÃO DE AZOSPIRILLUM BRASILENSE E DOSES DE NITROGÊNIO, VISANDO PRODUÇÃO DE ETANOL E TEOR DE PROTEÍNA NOS GRÃOS, EM MILHO CULTIVADO NA ENTRESSAFRA SOB BAIXA LATITUDE. / BRUNA DE PÁDUA MARCOLINI. – Palmas, TO, 2018.

80 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Agroenergia, 2018.

Orientador: Joênes Mucci Peluzio

1. Bactéria Diazotrófica. 2. Zea mays L. 3. Teor de Proteína nos Grãos. 4. Carboidrato. I. Título

**CDD 333.7**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITARIO DE PALMAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

INOCULAÇÃO DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* E DOSE DE NITROGÊNIO  
VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL E TEOR DE PROTEÍNAS NOS  
GRÃOS, EM MILHOS CULTIVADOS NAS ENTRESSAFRA SOB BAIXA  
LATITUDE

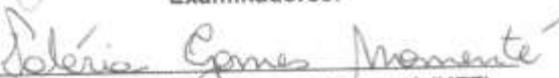
ALUNO: Bruna de Pádua Marcolini

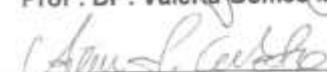
COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente:

  
Prof. Dr. Joenes Mucci Peluzio (UFT)

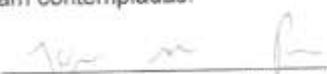
Examinadores:

  
Prof. Dr. Valéria Gomes Momenté (UFT)

  
Prof. Dr. Artur Ferreira Lima Neto (IFTO)

Data da Defesa: 27/04/2018

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas PGA para o formato da  
Dissertação foram contempladas:

  
Prof. Dr. Joenes Mucci Peluzio (UFT)

**Dedico a minha filha Ana Luiza, aos meus pais Marcio Marcolini e Juracy C. P. Marcolini e aos meus Irmãos Flavia e Murilo.**

## AGRADECIMENTO

Á Deus por tudo que tem me proporcionado na vida, estar realizando esse sonho de me tornar mestre, por ter me dado força e sabedoria para concluir.

Á minha filha Ana Luiza que sempre foi minha maior motivadora.

Á minha mãe Juracy e ao meu Pai Marcio, que sempre me apoiaram e incentivaram para não desistir, por cuidar da Ana Luiza enquanto eu estudava.

Aos meus irmãos Flavia e Murilo e aos meus cunhados Izabella e Pereira, que sempre estiveram do meu lado me dando força e me ajudando de alguma forma.

Ao meu grande mestre e orientador Joênes Mucci Peluzio, por ter me orientado no campo, no laboratório e nos textos, por ter sido tão paciente.

O Professor Evandro, por ter me acolhido e me ajudado na montagem do experimento em campo, me dando conselho e sempre disposta a me ajudar.

Á professora Solange Sagio, que foi mais que uma professora se tornou uma grande amiga.

As minhas amigas Regiane e Julyana que sempre me incentivarão a correr atrás dos meus sonhos.

Às pessoas maravilhosas que conheci durante o mestrado, em especial Melissa e Layane que se tornaram minhas grandes amigas.

O Professor Guilherme, Domingos e Illys por me ajudarem nas análises de laboratório.

Á todos os professores do Mestrado de Agroenergia, que de alguma forma me acrescentaram muito conhecimento.

Á Universidade Federal do Tocantins-UFT, pela estrutura e pelos laboratórios.

Á todos os funcionários do Programa de Pós- Graduação em agroenergia PPGA.

Áo meu colega Clauber Rosanova, que sempre esteve me incentivando a querer algo a mais e correr atrás dos meus sonhos.

Ebenézer: Até aqui nos ajudou o Senhor

Samuel 7:12

## **Inoculação De *Azospirillum Brasilense* E Doses De Nitrogênio, Visando Produção De Etanol E Teor De Proteína Nos Grãos, Em Milho Cultivado Na Entressafra Sob Baixa Latitude.**

### **RESUMO**

A cultura do milho no Tocantins é de extrema importância devido a sua utilização em inúmeras finalidades, como por exemplo, milho verde, grão e silagem. Sua produção está diretamente relacionada ao fornecimento adequado de nutrientes, especialmente o nitrogênio, que pode ser fornecido pela adubação ou pela fixação biológica de nitrogênio. Uma das bactérias fixadoras de nitrogênio mais importante na cultura gramínea é o *Azospirillum* SP. Que além de fornecer nitrogênio, melhora o ambiente radicular, aumentando a absorção de água e nutrientes pela planta. Objetivou o presente trabalho, o estudo do efeito da inoculação via sementes, da bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense*, associado ou não à adubação nitrogenada, nos teores de proteína e carboidrato dos grãos de milho cultivado no período da entressafra na região centro sul do estado do Tocantins. Foram realizados dois experimentos em Palmas -TO, em duas épocas de semeadura, 10 de julho de 2015 e outro em 01 de Agosto de 2015, em um delineamento experimental de blocos casualizados (DBC) com 30 tratamentos e três repetições, dispostos em um esquema fatorial 2x3x5, representado por dois processos de inoculação das sementes (com e sem inoculação das sementes), três genótipos de milho (Al Bandeirante, variedades de polinização aberta, e os Híbrido Duplo Orion e AG-1051) e cinco doses de nitrogênio N (0, 50, 100, 150 e 200kg ha<sup>-1</sup>) realizadas em cobertura. A inoculação com *Azospirillum brasilense* promoveu um aumento no teor de proteína e nos grãos, nas duas épocas e em todas cultivares, já o teor de carboidrato apresentou melhor desempenho no manejo sem a inoculação. O híbrido AG 1051 apresentou um maior incremento no teor de proteína e carboidrato nos grãos e função de doses de N, nos manejos S/A e C/A. A utilização do *Azospirillum brasilense*, associada ou não à adubação nitrogenada, promoveu um aumento no teor de proteína nos grãos de milho, e nas menores doses de N, com ou sem a inoculação promoveu um aumento significativo no teor de carboidrato nos grãos de milho. Na primeira época, no manejo com e sem inoculação e sobre as doses de N, todas as cultivares tiveram um aumento significativo no teor de proteína e teor de carboidrato nos grãos de milho.

**Palavras-Chaves:** Bactéria Diazotrófica, *Zea mays* L, Teor de Proteína nos Grãos, Carboidrato.

## **Inoculation Of Azospirillum Brasilense And Doses Of Nitrogen, Aiming To Produce Ethanol And Protein Content In Grains, In Corn Cultivated In Off - Season Under Low Latitude.**

### **ABSTRACT**

The corn crop in Tocantins is of extreme importance due to its use in innumerable purposes, such as green corn, grain and silage. Its production is directly related to the adequate supply of nutrients, especially the nitrogen, that can be supplied by the fertilization or the biological fixation of nitrogen. One of the most important nitrogen-fixing bacteria in grass culture is *Azospirillum* SP. In addition to providing nitrogen, it improves the root environment, increasing the absorption of water and nutrients by the plant. The objective of this study was to study the effect of seed inoculation of *Azospirillum brasilense* diazotrophic bacteria, associated or not with nitrogen fertilization, on the protein and carbohydrate contents of maize grains cultivated in the mid - season period in the south central region of Tocantins State . Two experiments were carried out in Palmas -TO, in two sowing seasons, July 10, 2015 and another on August 1, 2015, in a randomized complete block design (DBC) with 30 treatments and three replications, arranged in a scheme (with and without seed inoculation), three maize genotypes (Al Bandeirante, open pollinated varieties, and the Double Orion Hybrid and AG-1051) and five N rates ( 0, 50, 100, 150 and 200kg ha<sup>-1</sup>) carried out in coverage. The inoculation with *Azospirillum brasilense* promoted an increase in the protein content and in the grains, in both seasons and in all cultivars, already the carbohydrate content presented better performance in the management without the inoculation. The AG 1051 hybrid showed a higher increase in protein and carbohydrate content in the grains and function of N doses in the S / A and C / A treatments. The use of *Azospirillum brasilense*, associated or not to nitrogen fertilization, promoted an increase in protein content in corn grains, and in the lower doses of N, with or without inoculation promoted a significant increase in carbohydrate content in corn grains. In the first season, in the management with and without inoculation and on the doses of N, all cultivars had a significant increase in protein content and carbohydrate content in corn grains.

**Key Words:** Diazotrophic Bacteria, *Zea mays* L, Protein Content in Grains, Carbohydrate

## ÍNDICE DE IMAGENS

**Imagem 1:**Fase de Crescimento da cultura do milho/ Estádios Fenológicos do Milho . 20

**Imagem 2:** Efeito dos fatores de estresse sobre a produtividade do milho ..... 23

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1:**Teor de proteína (%) em genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada entre épocas diferentes e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015. \*significativo a 5% de probabilidade pelo teste t, <sup>1</sup>Maxima Eficiência Técnica..... 44

**Figura 2:**Teor de proteína (%) em genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada entre épocas diferentes em Palmas – TO, entressafra 2015. \*significativo a 5% de probabilidade pelo teste t, <sup>1</sup>Maxima Eficiência Técnica ..... 45

**Figura 3:**Teor de proteína (%) em genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada entre épocas diferentes e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015. \*significativo a 5% de pro probabilidade pelo teste t, <sup>1</sup>Maxima Eficiência Técnica ..... 51

**Figura 4:**Média de Carboidrato (%) em genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada e processo com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas-TO, entressafra 2015. \*significativo a 5% de probabilidade pelo teste..... 51

## ÍNDICE DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1:</b> Composição média do milho.....  | 18 |
| <b>Tabela 2:</b> Distribuição das frações de proteínas no Milho (% base seca) .....  | 30 |
| <b>Tabela 3:</b> Produtividade distintas matérias-primas .....   | 32 |
| <b>Tabela 4:</b> Caracterização físico-química de 0-20 cm do solo utilizado nos ensaios 2015.<br>.....   | 33 |
| <b>Tabela 5:</b> Análise de Variância Conjunta do teor de proteína (%) e de carboidrato (%)<br>em três genótipos de milho, com e sem inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> , em<br>diferentes doses de nitrogênio e épocas de semeadura, em Palmas- TO, na entressafra<br>2015..... | 39 |
| <b>Tabela 6:</b> Médias do teor de Proteína (%) em três genótipos de milho, sob cinco níveis<br>de adubação nitrogenada e processos com e sem inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> ,<br>em duas épocas de semeadura, em Palmas-TO, na entressafra 2015 .....                       | 41 |
| <b>Tabela 7 :</b> Médias do Carboidrato (%) em três genótipos de milho, sob cinco níveis de<br>adubação nitrogenada e processos com e sem inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> , em<br>duas épocas de semeadura, em Palmas-TO, na entressafra 2015 .....                           | 49 |

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

|   |    |
|---|----|
| <b>Gráfico 1:</b> Temperatura média (°C) mensais e semanais ocorridas durante a condução<br>dos ensaios experimentais na entressafra 2015. .... | 34 |
| <b>Gráfico 2:</b> Características dos genótipos utilizados nos ensaios experimentais na<br>entressafra 2015. ....                               | 35 |
| <b>Gráfico 3:</b> Após a leitura no HPLC da amostra de milho (moída) e hidrolisada.....   | 37 |

## Sumário

|  |      |
|--|------|
| RESUMO .....   | viii |
| ABSTRACT .....   | ix   |
| ÍNDICE DE IMAGENS.....   | x    |
| ÍNDICE DE FIGURAS.....   | x    |
| ÍNDICE DE TABELAS .....  | xi   |
| ÍNDICE DE GRÁFICOS.....  | xi   |
| 1.INTRODUÇÃO.....  | 14   |
| 2.OBJETIVOS .....  | 17   |
| 2.1-OBJETIVO GERAL .....   | 17   |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS .....  | 17   |
| 3.REFERENCIAL TEÓRICO.....   | 18   |
| 3.1-CULTURA DO MILHO: ORIGEM, EVOLUÇÃO, FISILOGIA E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA. | 18   |
| 3.2 SOLOS DO CERRADO E EXIGÊNCIAS DA CULTURA.....                          | 21   |
| 3.3 INFLUÊNCIA AGROCLIMÁTICAS NO MILHO .....                               | 21   |
| 3.3.1 RADIAÇÃO SOLAR .....   | 22   |
| 3.3.2 ESTRESSE.....  | 23   |
| 3.3.3 ESTRESSE TÉRMICO .....   | 24   |
| 3.4-NITROGENIO (N) .....   | 25   |
| 3.4.1- ADUBAÇÃO NITROGENADA: MANEJO E APLICAÇÃO .....                      | 26   |
| 3.5- AZOSPIRILLUM SSP : .....  | 27   |
| 3.5.1- INOCULAÇÃO COM <i>AZOSPIRILLUM</i> .....                            | 27   |
| 3.6- COMPOSIÇÃO QUIMICA DOS GRÃOS.....                                     | 28   |
| 3.6.1 CARBOIDRATOS.....  | 28   |
| 3.7 PROTEÍNA.....  | 30   |
| 3.8 ETANOL DE MILHO .....  | 31   |
| 4.MATERIAIS E MÉTODOS .....  | 33   |
| 4.1- LOCALIZAÇÃO E CLIMA DA ÁREA EXPERIMENTAL .....                        | 33   |
| 4.2- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....                                       | 34   |
| 4.2.1-CARACTERÍSTICAS DAS VARIEDADES.....                                  | 34   |
| 4.3- CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS .....                                       | 35   |
| 4.5.- VARIÁVEIS ANALISADAS EM LABORATÓRIO .....                            | 36   |
| 4.5.1.-PROTEINA (%) .....  | 36   |
| 4.5.2-CARBOIDRATO .....  | 36   |

|  |    |
|--|----|
| 4.5.2.1- HIDROLISE ENZIMÁTICA.....                             | 36 |
| 4.5.2.2-CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (HPLC) ..... | 37 |
| 4.6- ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....                        | 38 |
| 5.RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                 | 39 |
| 5.1 ANALISE DE VARIÂNCIA CONJUNTA .....                        | 39 |
| 5.2.-PROTEINA .....  | 40 |
| 5.2.1 COMPARAÇÃO ENTRE MEDIAS .....                            | 40 |
| 5.2.2 REGRESSÃO POLINOMIAL .....                               | 44 |
| 5.3- CARBOIDRATO .....   | 48 |
| 5.3.1- COMPARAÇÃO ENTRE MÉDIAS .....                           | 48 |
| 5.3.2- REGRESSÃO POLINOMIAL.....                               | 50 |
| 6.CONCLUSÃO.....   | 55 |
| BIBLIOGRAFIA .....   | 56 |

## 1.INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays L.*), um importante cereal, que apresenta várias utilizações, desde o consumo na alimentação humana até a produção de subprodutos por grandes indústrias, como: química, farmacêutica, ração animal e de combustível, contém, aproximadamente, 72% de amido, 9,5% proteínas, 9% fibra e 4% de óleo. (D'ARCE; SPOTO & CASTELLUCCI; 2015)

Esta cultura ocupa o terceiro lugar no ranking de produtividade e o segundo lugar nas exportações mundiais. Na safra 2016/2017 foram totalizados 86,5 milhões de toneladas de milho produzidas e 28 milhões de toneladas exportadas pelo país (USDA, 2017).

No estado do Tocantins, a baixa produtividade do milho ocorre, dentre outros fatores, devido à presença de altas temperaturas, aliada ao baixo nível tecnológico empregado pelos produtores e a escassez de sementes melhoradas e de variedades adaptadas às condições de estresses abióticos, tais como as variações climáticas e nutricionais; neste último caso, relacionadas principalmente ao N, dentre outros fatores (SANTOS, 2014).

Dentre as biomassas que podem ser utilizadas como alternativa na produção de etanol, destacaremos a matéria-prima amilácea, o milho (*Zea mays L.*), que é uma das culturas mais produzidas no mundo, tem participação expressiva na economia e apresenta expansão de área cultivada todos os anos entre os principais países produtores (LEFF et al., 2004; USDA, 2017).

Os Estados Unidos produzem etanol predominantemente a partir do milho, com um rendimento médio de 3.500 L por hectares de álcool de milho, isso devido as suas ótimas condições climáticas para produção. (BORTOLETTO e ALCARDE, 2015)

No Brasil o processamento industrial de milho para a fabricação de etanol ainda é muito recente no mercado. Contudo, fruto da boa estabilidade produtiva do milho e da inovação tecnológica a produção de etanol no país vem ganhando destaque e cresceu mais de 532% nos últimos 4 anos, apenas na safra 2016/2017 alcançou-se uma produção de 234.147 m<sup>3</sup> de etanol do grão (CANAL – JORNAL DA BIOENERGIA, 2017).

A formação de grãos na cultura do milho está estreitamente relacionada com a translocação de açúcares, de nitrogênios e de órgãos vegetativos, onde as folhas com

maior teor de N apresentam uma maior capacidade de assimilar CO<sub>2</sub> e de sintetizar carboidratos durante a fotossíntese (WOLSCHICK et al.; 2003). Entretanto, os solos brasileiros apresentam, em sua maioria, baixo teor de N disponível, tornando a adubação nitrogenada uma prática indispensável e, neste contexto, os fertilizantes inorgânicos se destacam como a principal forma de adição do nutriente ao solo. (DARTORA et al; 2013)

O manejo dos fertilizantes nitrogenados deve ser realizado de maneira adequada para garantir a produtividade da cultura, pois o excesso pode provocar perdas e a contaminação do ambiente (FERNANDES e LIBARDI, 2007) além de caracterizar um gasto desnecessário. Assim, a dose, a época de aplicação e as condições do solo devem ser avaliadas com o intuito de suprir a planta nas fases críticas, para reduzir as perdas de N e minimizar os custos de adubação (HOEFT, 2003).

Neste sentido, a substituição da adubação nitrogenada por organismos biológicos (bactérias do gênero *Azospirillum*) que influenciam no desenvolvimento da planta e na fixação biológica do nitrogênio permitiria reduzir a contaminação do meio ambiente e diminuir os custos na aquisição de N, uma vez que as mesmas estimulam a produção de fitohormônios pelas plantas, melhoram os parâmetros fotossintéticos, a condutância estomática e elasticidade da parede celular, alterando as variáveis de produção (ZUFFO, A; 2016)

Essas bactérias podem atuar no crescimento da planta através da produção de substâncias promotoras de desenvolvimento (auxinas, giberelinas e citocininas) as quais proporcionam melhor crescimento radicular (OKON e VANDERLEYDEN, 1997) e por consequência maior absorção de água e nutrientes (CORREA et al., 2008) resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (BASHAN et al., 2004; HUNGRIA, 2011)

Há algumas indicações de que plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* tendem a absorver mais N após a antese, em comparação com plantas não inoculadas e adubadas com a mesma quantidade de N onde, normalmente, a absorção mais tardia de N pelas plantas resulta em incremento no teor de proteína nos grãos. (DIDONET et al; 2000).

Com relação à produção de etanol, tem-se verificado que a síntese de amido e de proteína competem por fotossintetizados durante o período de enchimento de grãos, sendo que na ausência de N, os fotossintetizados que seriam convertidos em proteínas são usados na síntese de carboidratos. Nesta condição, o *Azospirillum brasilense*

poderia aumentar a disponibilidade de N para a planta, minimizando a competição proteínas-carboidratos. (BASI; 2013; BÁRBARO et al 2008; DARTORA et al 2013).

O presente trabalho teve como principal objetivo estudar os efeitos da bactéria *Azospirillum brasilense* no teor de proteína e teor de carboidrato na cultura do milho, associado ou não ao uso de nitrogênio, cultivado na entressafra sob baixa latitude

## **2.OBJETIVOS**

### **2.1-OBJETIVO GERAL**

Avaliar os efeitos da inoculação de *Azospirillum brasilense*, em associação ou não ao uso de nitrogênio, no teor de proteína e de carboidratos em genótipos de milho, em cultivo de entressafra, sob baixa latitude.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

Estudar o comportamento de genótipos de milho, em associação ou não ao uso de nitrogênio, em baixa latitude;

Avaliar o efeito das épocas de semeadura nos genótipos de milho, em associação ou não ao uso de nitrogênio, em baixa latitude;

Estudar o efeito da bactéria *Azospirillum brasilense*, em associação ou não com nitrogênio, em baixa latitude.

### 3.REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1-CULTURA DO MILHO: ORIGEM, EVOLUÇÃO, FISIOLOGIA E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

O milho é originário da América, provavelmente da região onde hoje se situa o México, tendo sido domesticado entre o período de 7.000 a 10.000 anos atrás, é cultivada em muitas partes do Mundo (Estados Unidos da América, República Popular da China, Índia, Brasil, França, Indonésia, África do Sul, etc.). A sua grande adaptabilidade, representada por variados genótipos, permite o seu cultivo desde o Equador até ao limite das terras temperadas e desde o nível do mar até altitudes superiores a 3600 metros, encontrando-se, assim, em climas tropicais, subtropicais e temperados (BARROS & CALADO; 2014).

Como resultado do processo de seleção natural e da domesticação ao longo dos anos, foi desenvolvida uma planta anual, robusta e ereta, com um a quatro metros de altura, que foi “construída” visando a produção de grãos (MAGALHAES P. 2002).

De acordo com Nunes et al. (2008) e Carvalho et al. (2004) a composição química do milho (Tabela 1) é determinada principalmente por quatro elementos: amido, proteína bruta, lipídeos e fibra bruta.

**Tabela 1:** Composição média do milho.

| Compostos          | (%)   |
|--------------------|-------|
| Umidade            | 10,93 |
| Proteína           | 9,88  |
| Lipídeos           | 4,17  |
| Carboidratos Total | 71,95 |
| Fibras             | 1,71  |
| Compostos minerais | 1,36  |

Fonte: Belyea et al. (2004).

Os primeiros trabalhos de melhoramento com milho híbrido no Brasil tiveram início em 1932 no Instituto Agronômico – IAC de Campinas, no Estado de São Paulo, sendo o Brasil o segundo país a adotar o milho híbrido (SAWAZAKI & PATERINANI, 2004). No IAC, Krug e colaboradores produziram, (1932) , o primeiro híbrido duplo brasileiro. Segundo Souza Sobrinho (2001), por volta de 1950, as variedades foram substituídas pelo uso de híbridos triplos e simples.

Com relação à fisiologia, o milho é uma das mais eficientes plantas armazenadoras de energia existentes na natureza, uma vez que é uma planta C4. De uma semente que pesa pouco mais de 0,3 g irá surgir uma planta geralmente com mais de 2,0

m de altura, isto dentro de um espaço de tempo de cerca de nove semanas. Nos meses seguintes, essa planta produz cerca de 600 a 1.000 sementes similares àquela da qual se originou (MAGALHAES P.; 2002).

As plantas C4 são aquelas cujo primeiro produto estável formado na fotossíntese possui quatro átomos de carbono (OAA, ácido oxaloacético), e a fixação preliminar de CO<sub>2</sub> ocorre através da enzima PEP-case (fosfoenolpiruvato carboxilase). Essa enzima, responsável pela fixação do CO<sub>2</sub> em plantas C4, é cerca de 100 vezes mais eficiente que a Rubisco, única enzima de carboxilação que ocorre nas plantas C3. (MAGALHÃES et al, 2002)

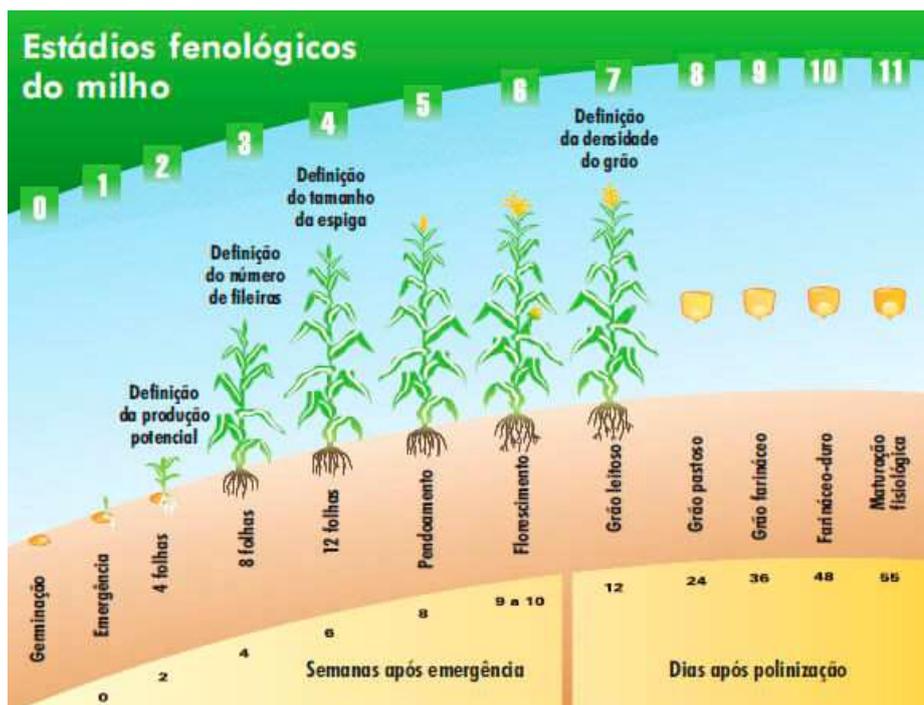
Várias respostas do milho aos fatores do ambiente decorrem de seu mecanismo fotossintético C4, resultando em elevada produtividade de grãos, quando comparado a outras espécies cultivadas sem o mesmo mecanismo (BERGONCI & BERGAMASCHI, 2002).

A grande eficiência de transformação de energia luminosa em energia química deve-se ao processo fotossintético do tipo C4, que favorece a concentração contínua de CO<sub>2</sub> em células que circundam os feixes vasculares. Além disso, nas plantas C4 há uma maior proximidade entre os feixes vasculares e as células produtoras de carboidratos da bainha vascular das folhas, resultando em eficiente transporte de materiais produzidos e acumulados nas folhas em direção aos grãos em formação (DARTORA et al; 2013).

A água desempenha importante papel na fisiologia da planta em todos os estádios de desenvolvimento. A exigência mínima de água pela cultura é de 350-550 mm.

Para um eficiente manejo de irrigação, de nutrientes e de outras práticas é de suma importância conhecer as diferentes fases do crescimento da planta e suas demandas. Des da fase de germinação até a maturação. (Imagem 1).

**Imagem 1:**Fase de Crescimento da cultura do milho/ Estádios Fenológicos do Milho



Fonte: DuPont Pioneer

Com o aumento gradativo do nível tecnológico da produção de milho deve-se entender a importância e as fases críticas desta cultura, podendo-se planejar a melhor época de semeadura para os diferentes tipos de híbridos, assim como suas necessidades, maximizando o potencial produtivo. (MULLER T.M; 2013)

Um dos períodos mais críticos da exigência nutricional da cultura do milho ocorre durante o desenvolvimento vegetativo (V12 a V18), onde há maior taxa diária de absorção de elementos e maior acúmulo de matéria seca, quando o número potencial de grãos está sendo definido. (MAGALHÃES & DURÃO; 2006).

Sua importância econômica é caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vão desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia. Na realidade, o uso do milho em grão como alimentação animal representa a maior parte do consumo desse cereal, isto é, cerca de 70% no mundo (DUARTE et al; 2010). Além disso, exerce importância no aspecto social, uma vez que a maioria dos produtores não são altamente tecnificados e não possuem grandes extensões de terras. (GUIMARAES P.S; 2007)

O milho é uma das culturas mais produzidas no mundo, tem participação expressiva na economia e apresenta expansão de área cultivada todos os anos entre os principais países produtores (LEFF et al., 2004; USDA, 2017). Esse sucesso produtivo da cultura do milho se deve as condições climáticas favoráveis e a utilização de

materiais com genética de alta performance (CONAB, 2017a). O milho brasileiro ocupa o terceiro lugar no ranking de produtividade e o segundo lugar nas exportações mundiais. Na safra 2016/2017 foram totalizados 86,5 milhões de toneladas de milho produzidas e 28 milhões de toneladas exportadas pelo país (USDA, 2017).

### **3.2 SOLOS DO CERRADO E EXIGÊNCIAS DA CULTURA**

O cerrado ocupa uma extensão de 2,04 milhões de quilômetros quadrados, sendo o segundo maior bioma da América do Sul, superado somente pela Amazônia, com localização no centro do país, engloba os estados de Goiás, Distrito Federal e parte dos estados do Mato grosso do Sul, Mato Grosso, Rondônia, Minas Gerais, Tocantins, Bahia, Maranhão, Piauí e Pará. Nesse bioma; as nascentes das três maiores bacias hidrográficas (Amazonica/Tocantins, São Francisco e Prata) que resulta em um grande potencial aquífero. (MMA; 2014).

Segundo as projeções do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), até a safra 2021/22, a área total cultivada com grãos deverá atingir 7,7 milhões de hectares na região compreendida pelos estados do Maranhão, Piauí, Tocantins e Bahia (MATOPIBA), que corresponde a 10% da produção nacional. (AGUIAR; 2013). Nesta região, tem sido realizada práticas conservacionistas como plantio direto e adoção de variedades adaptadas as regiões dos climas tropicais do cerrado.

Com precipitações pluviométricas e temperaturas altas no período de outubro a março, o cerrado apresenta condições favoráveis ao cultivo de grãos. O solo predominante neste bioma é o Latossolo, que são solos antigos, ácidos, profundos, com baixa fertilidade, natural bem drenados, com resistência a compactação, de relevos planos à levemente ondulados, propícios para a mecanização agrícola (SANTOS, MONTENEGRO e ALMEIDA; 2010). De modo geral, os solos apresentam baixo teor de N onde, geralmente, apenas 50% do N-fertilizante aplicado nesses solos é aproveitado pelas plantas, sendo o restante perdido por lixiviação e volatilização, entre outras causas. (SAIKIA & JAIN, 2007).

### **3.3 INFLUÊNCIA AGROCLIMÁTICAS NO MILHO**

Várias respostas do milho aos elementos meteorológicos decorrem de seu mecanismo fotossintético C4, que resultam em alta produtividade e, em consequência,

alto rendimento de grãos, superando outras espécies cultivadas. Estes conceitos são fundamentais, sobretudo quanto às interações da planta e o ambiente físico, com ênfase para radiação solar, CO<sub>2</sub>, temperatura, água e nitrogênio. (BERGAMASCHI H. 2014)

O milho é afetado por vários fatores climáticos, Durães (2006) cita os fatores primários e secundários são eles: “Primários: latitude, altitude, chuva, topografia, textura do solo e composição do solo. Secundários: radiação solar, comprimento do dia, temperatura, água no solo, aeração do solo, minerais do solo”. A interação negativa destes fatores ocasiona a redução na produção. (MALDONER et al; 2014)

### **3.3.1 RADIAÇÃO SOLAR**

Originalmente, o milho é uma planta de dias curtos, embora os limites dessas horas de luz não sejam idênticos e nem bem definidos para os diferentes tipos de genótipo. A ocorrência de dias longos pode aumentar sua fase vegetativa e o número de folhas, ocasionando atraso no florescimento (FERRAZ, 1966 citado por FANCELLI & DOURADO NETO;2004)

A radiação solar está associada a produção direta de massa no milho e é essencial para o desenvolvimento da planta, pois na sua ausência o processo fotossintético é inibido e, conseqüentemente, ocorre redução na produção dos grãos, uma vez que a fixação de CO<sub>2</sub> fornece cerca de 90% da matéria seca da planta, e uma redução de 30 a 40% da radiação por um logo período pode acarretar na redução da produção e atraso na maturação. Ressalta-se que o máximo aproveitamento da radiação ocorre no pré-florescimento e no enchimento de grãos, sendo este último o período mais crítico (RODRIGUES, SILVA E FERREIRA, 2011)

O aproveitamento efetivo da luz pelo milho é influenciado pela distribuição espacial das plantas na área, pelo arranjo mento das folhas na planta e pela extensão (ou duração) da área foliar. Evidências experimentais têm demonstrado que quando o Índice de área foliar (IAF) é baixo, plantas com arquitetura foliar horizontal são mais eficientes no acumulo de matéria seca. Em contrapartida, aquelas com folhas mais eretas podem contribuir significativamente para a incremento da produtividade, em razão do aumento da área foliar por unidade de terreno. (GALVÃO, BOREM E PIMENTEL; 2015)

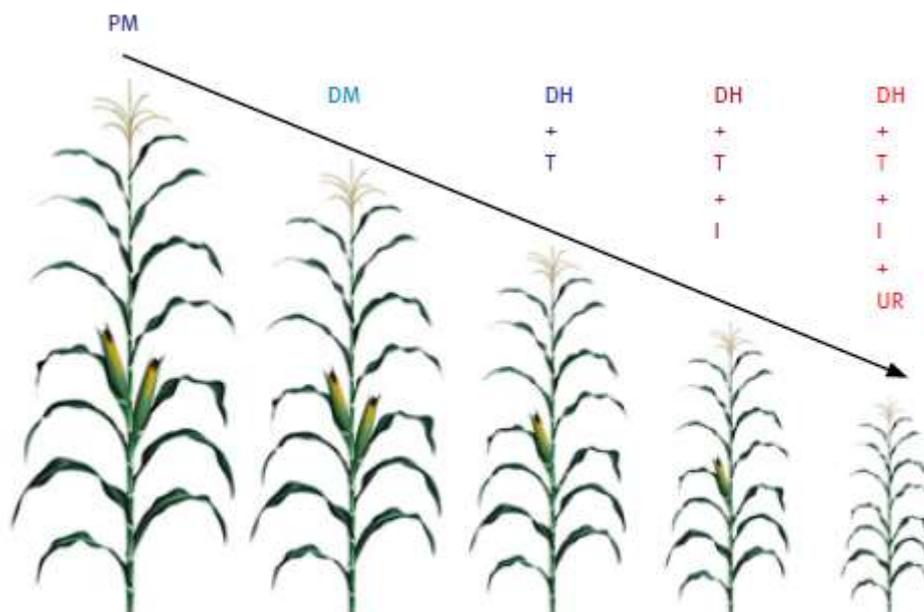
### 3.3.2 ESTRESSE

As plantas de milho estão expostas a diversos fatores bióticos e abióticos que podem causar perturbações no estado fisiológico normal das plantas, podendo ocasionar situações de estresse. Do ponto de vista agrônomo, o estresse é uma condição de perturbação do desenvolvimento das plantas causado pelo ambiente de produção, que resulta em redução da produtividade. (RIBEIRO et al; 2012)

Segundo Souza & Barbosa (2015), dentre os fatores bióticos que podem levar as plantas ao estresse, pode-se citar o ataque de pragas e doenças que causam grandes alterações nos processos fisiológicos das plantas. Os fatores que estão mais ligados à redução da produtividade da cultura do milho são os fatores abióticos relacionados ao clima (disponibilidade hídrica do solo, temperatura do ar, umidade relativa do ar e irradiação solar).

Os mesmos autores relatam que no campo, as plantas nunca estão expostas somente a um fator de estresse, mas, sim, a uma combinação de vários fatores que as levam a diferentes níveis de estresse, pode –se observar na Imagem 2.

**Imagem 2:** Efeito dos fatores de estresse sobre a produtividade do milho



*Obs.: Potencial máximo da cultura (PM), déficit hídrico (DH), temperatura (T), irradiação (I) e umidade relativa do ar (UR); o estresse severo ocorre quando há a combinação de vários fatores de estresse.*

Fonte: Souza & Barbosa (2015)

Por outro lado, as plantas sempre apresentam algum nível de resposta de defesa, baseada em três estratégias diferentes: a primeira é a resistência ao estresse ou resposta homeostática, que é a tentativa de manter seu equilíbrio fisiológico. A segunda estratégia é a tolerância ao estresse; neste caso, a planta possui maior plasticidade, convivendo com os fatores de estresse com menor gasto energético. A terceira estratégia é a “evitância”; nesse caso, a planta evita o estresse, investindo previamente na formação de um sistema de raízes profundo e ramificado, que será mais eficiente na absorção de água e nutrientes (SOUZA & BARBOSA; 2015)

O estresse afeta, principalmente na fase de enchimento de grãos, comprometendo o conteúdo proteico, classificadas em metabólicas e estruturais ou de reserva. As proteínas de reserva são as mais importantes para a qualidade industrial. (RIBEIRO et al; 2012)

### **3.3.3 ESTRESSE TÉRMICO**

As condições térmicas influenciam os mais diversos processos vitais das plantas, desde germinação e emergência pela temperatura do solo e ar, o desenvolvimento fenológico e o crescimento da planta como um todo, por ambas as temperaturas do solo e ar. Durante o período de crescimento vegetativo, o tempo térmico decorrido entre o aparecimento de duas folhas sucessivas é denominado “filocrono”. Este índice permite estimar a duração do período vegetativo das plantas e, portanto, a época de florescimento em função da temperatura do ar. (BERGAMASCHI; 2014)

A maior velocidade de crescimento dos caules e das folhas ocorre quando as temperaturas se situam entre os 25 e os 35 °C, Se as temperaturas máximas durante a fecundação são superiores a 35 °C causam danos na produtividade, devido a uma diminuição do número de grãos. (BARROS J.F.C e CALADO J.G.; 2014)

O estresse por altas temperaturas, além de reduzir o período de florescimento, provoca uma redução drástica no número de perfilho por planta, que ocorre em função da competição pelos recursos, sendo que os carboidratos produzidos pelas plantas são direcionados, quase que exclusivamente, para as espigas visando à formação e o enchimento dos grãos. (HOSSAIN et al.;2012)

De acordo com Rodrigues et al. (2011), caso o solo tenha umidade suficiente o milho se desenvolve bem em altas temperaturas. (CRUZ et al. 2010) destaca que o milho suporta temperaturas noturnas de até 30 °C por longos períodos.

Por outro lado, altas temperaturas (sobretudo durante a noite) podem reduzir a assimilação líquida das plantas, devido ao aumento das perdas por respiração. Como consequência, ocorre redução na síntese de amido e na deposição do mesmo nos grãos, afetando negativamente a produtividade. A tolerância ao estresse por calor está associada à capacidade de genótipos em manter as taxas fotossintéticas estáveis sob altas temperaturas (RIBEIRO et al; 2012). Em regiões com verões quentes é frequente a redução do rendimento de grãos de milho em épocas tardias, devido a elevadas temperaturas. (BERGAMASCHI; 2014)

### **3.4-NITROGENIO (N)**

O nitrogênio (N) é o elemento mais abundante da Terra e chega ao solo através de compostos orgânicos (restos vegetais e animais) e/ou inorgânicos, fixação biológica (simbiótica ou não) e fixação por descargas elétricas. No solo, o N se encontra na forma orgânica ou inorgânica, podendo passar de uma forma para outra através do fenômeno da mineralização ou imobilização. No solo, o nitrogênio pode ser perdido de várias formas, dentre elas, a volatilização, a lavagem (ou erosão), a lixiviação e/ou extraído pelas culturas. (MACHADO; 2010)

As plantas absorvem o nitrogênio na forma de íons  $\text{NO}_3^-$  (nitrato) e  $\text{NH}_4^+$  (amônio). Primeiramente ocorre a conversão de nitrato a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), através da ação da enzima nitrato redutase. Esta fase da rota de assimilação de N na planta depende da disponibilidade de fotoassimilados, mais especificamente de carboidratos e de fornecimento contínuo de  $\text{NO}_3^-$  para as folhas. A segunda etapa do processo se resume na conversão de nitrito a amônia, pela ação da enzima nitrito redutase. (BASI et al, 2011)

O N é um nutriente muito importante para o milho, por ser integrante dos aminoácidos, bem como da molécula de clorofila, amins, amidas, enzimas alcalóides, hormônios, entre outros. O fato de ser constituinte das proteínas torna-o indispensável aos processos vitais da planta, sendo que sua deficiência afetaria a capacidade fotossintética, provocaria o crescimento retardado e prejudicaria a reprodução (BISSANI, 2008).

O N exerce função importante nos processos bioquímicos da planta (JAKELAITIS et al., 2005), influenciando o crescimento da planta mais do que qualquer outro nutriente (BREDEMEIER & MUNDSTOCK, 2000). O N também ‘e

determinante no tamanho das espigas, a baixa dose de N é uma das principais causas das baixas produtividades.

As plantas, de modo geral, respondem bem a adubação nitrogenada, onde o efeito externo do nitrogênio mais visível é a vegetação verde e abundante. Porém, o excesso de N é prejudicial. Assim, a dose deste elemento, fornecida à cultura, deve ser bem equilibrada em relação a quantidade do outro elemento de que a planta necessita, principalmente, fósforo e potássio. (MACHADO; 2010)

Na tomada de decisão sobre a necessidade de adubação nitrogenada alguns fatores devem ser considerados, tais como: condições edafo-climáticas, sistema de cultivo (plantio direto e convencional), época de semeadura (época normal e safrinha), responsividade do material genético, rotação de culturas, época e modo de aplicação, fontes de nitrogênio, aspectos econômicos e operacional. Isso enfatiza a regra de que as recomendações de nitrogênio devem ser cada vez mais específicas e não generalizadas. (COELHO E FRANÇA; 2005)

#### **3.4.1- ADUBAÇÃO NITROGENADA: MANEJO E APLICAÇÃO**

As recomendações para a adubação nitrogenada em cobertura são realizadas com base em curvas de resposta, histórico da área e produtividade esperada, mas, de modo geral, varia de 60 a 100 kg de N/ha. Em agricultura irrigada, onde prevalece o uso de alta tecnologia, para a obtenção de elevadas produtividades, esta recomendação seria insuficiente. Nestas condições, doses de nitrogênio variando de 120 a 160 kg/ha podem ser necessárias para obtenção de elevadas produtividades (COELHO e FRANÇA; 2005 2005)

Para o planejamento dessa adubação deve-se levar em conta que o N aplicado fica retido pelos microrganismos do solo por até três semanas, somente depois é liberado para a solução onde as plantas conseguem absorver (YAMADA, 1996 citado por BASI; 2013). Também é importante destacar que altas doses (> 60 kg ha<sup>-1</sup>) de N na semeadura podem causar salinização da região próxima a raiz, que além de prejudicar a germinação das sementes (FANCELLI, 2001) também gera prejuízos financeiros pela necessidade de ressemeadura.

Ressalta-se, ainda, que o N é um nutriente dinâmico, que sofre transformações e pode ser facilmente perdido por lixiviação, volatilização na forma amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), nitrificação, desnitrificação, mineralização, imobilização e mobilização (RAMBO et

al., 2004), demonstrando que o seu parcelamento é uma alternativa para tentar diminuir as perdas e melhorar o fornecimento do nutriente para a cultura. (BASI; 2013)

Gomes et al, (2007) testaram épocas de aplicação de N no milho e verificou que a aplicações de cobertura em dose total (30 dias após a semeadura) e o parcelamento (antecipada, semeadura e 30 dias após) foram as épocas que proporcionaram a maior massa de mil grãos e de grãos por espiga.

Segundo Bortolini et al. (2002) a aplicação de 150 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura proporcionou ganho de 3030 kg ha<sup>-1</sup> de produção de grãos em relação a testemunha (0 kg ha<sup>-1</sup>) e ainda incrementa 38,7 g planta<sup>-1</sup> de produção de massa seca (MS) no espigamento quando comparado com o tratamento controle, devido a adubação nitrogenada em cobertura.

Diante da crescente demanda por fertilizantes nitrogenados, surge a necessidade de buscar alternativas para diminuir as perdas através do parcelamento da adubação de cobertura, assim como buscar alternativas de suplementação de N, sendo a fixação biológica de nitrogênio (FBN) uma opção para incrementar o rendimento da cultura do milho e sem prejuízos aos recursos naturais (BASI; 2013).

### **3.5- AZOSPIRILLUM SSP :**

#### **3.5.1- INOCULAÇÃO COM AZOSPIRILLUM**

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) de vida livre que auxiliam por diversos mecanismos na nutrição nitrogenada das culturas. (HUNGRIA; 2011). 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 (BASHAN e HOGUIN, 1997; ZAIED et al., 2003), o aumento do processo da redução assimilatória de nitrato disponível no solo (BODDEY et al., 1986) e a fixação biológica do N<sub>2</sub> (INIGUEZ et al., 2004). O aumento do sistema radicular, estimulado pela presença de bactérias, através da produção de substâncias promotoras do crescimento radicular, pode resultar em maior absorção de minerais e de água. (COLLING et al; 2012)

Segundo Didonet et al. (1996), são muitas as evidências de que a inoculação das sementes de milho com *A. brasilense* seja responsável pelo aumento da taxa de acúmulo de matéria seca, o que parece estar relacionado com o aumento da atividade das enzimas fotossintéticas e de assimilação de nitrogênio. Além do efeito sobre a cultura, a bactéria

possui ainda os seguintes benefícios como inoculante: a bactéria é endofítica, ou seja, penetra na raiz das plantas; apresenta antagonismo a agentes patogênicos; produz fitormônios; não é muito sensível às variações de temperatura e ocorre em todos os tipos de solo e clima. (BARTCHECHEN et al; 2010)

A principal barreira à utilização do *Azospirillum* na cultura do milho tem sido a inconsistência dos resultados de pesquisa, que podem variar de acordo com a cultivar, as condições edafoclimáticas e a metodologia de condução da pesquisa. (REPKE et al; 2013)

Hungria (2011) ao utilizar o *Azospirillum*, obteve aumentos de 31 e 26% na produtividade de grãos para as culturas do trigo e milho, respectivamente, porém, com fornecimento de parte do nitrogênio requerido pela planta pelo fertilizante mineral. Cabe salientar, que a bactéria *Azospirillum* é endofítica em gramíneas e associativa em culturas leguminosas.

Com o intuito de contornar a situação de baixa produtividade por estresses abióticos na região do cerrado, Cohen et al (2015) utilizaram microrganismos que estimulam o crescimento das plantas, denominados de bactérias promotoras de crescimento (BPC), que conseguem colonizar a superfície das raízes; rizosfera, filosfera e os tecidos internos das plantas.

Inúmeros trabalhos mostram os benefícios da utilização das bactérias na fixação biológica de nitrogênio, tais como o aumento da atividade da redutase do nitrato (HUERGO et al; 2008); a produção de hormônios como auxinas, citocinas, giberelinas e etileno (CASSÁN et al; 2008), o controle biológico de patógenos (RODRIGUEZ et al 2004) e o aumento na produtividade (CORREA et al; 2008) e na tolerância das plantas às condições adversas (HUNGRIA et al; 2011); na cultura do trigo, (CORREA et al; 2008; ZUFFO et al; 2015).

### **3.6- COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS GRÃOS**

#### **3.6.1 CARBOIDRATOS**

Os grãos do milho tem em sua composição média em base seca 72% de amido, 9,5% proteínas, 9% fibra (a maioria resíduo detergente neutro) e 4% de óleo (PAES; 2006).

Os carboidratos são encontrados como constituintes estruturais (celulose e outros polissacarídeos de parede); reserva de energia, na forma de polímeros (como o amido); constituintes de vários metabólitos (como ácidos nucléicos e coenzimas) e numerosos glicosídeos; e como precursores requeridos para a síntese de outros metabólitos (formados a partir de dióxido de carbono e água), sendo o ponto de partida para a formação de todos os componentes orgânicos na natureza (BRUNETON, 1999 citado por MAYUMI SASAKI; 2008).

A maioria das células vegetais tem a habilidade de sintetizar o amido, que é especialmente abundante em determinados órgãos como nos tubérculos da batata e em sementes como o milho (LEHNINGER, et al 1995; MARTIN & SMITH, 1995 citado por MAYUMI SASAKI; 2008).

No milho normal, os açúcares redutores estão presentes em maior quantidade nos primeiros estádios de amadurecimento (CREECH,1968). Assim sendo, a composição em amido, polissacarídeos solúveis em água, açúcares redutores e sacarose no milho está intimamente relacionada com seu estágio de maturação (TSAI et al.,1970).

Em milho verde, como em outros vegetais frescos, carboidratos simples como sacarose e frutose e o teor de amido definem atributos de qualidade, devendo ser investigados nesse estágio para melhor recomendação ao produtor e aceitação do consumidor. (CANIATO et al; 2004)

Os grãos milho, quando secos, possuem aparência enrugada, isto porque os genes “sugary” ou “brittle” previnem a conversão dos açúcares em amido e o grão passa a acumular fitoglicogênio, um polissacarídeo solúvel. (PAES; 2006)

Segundo Vieira (2013), na cultura da soja, os carboidratos desempenham um papel fundamental para a manutenção do ajuste osmótico e existe uma forte correlação entre o acúmulo de açúcares e a tolerância ao estresse osmótico em plantas. Assim, quando submetidas a estresse hídricos, é possível observar um aumento no acúmulo de carboidratos na planta, provavelmente relacionadas à taxa de translocação de osmossolutos para dentro dos drenos de armazenamento, visando ao restabelecimento do ajustamento osmótico.

Com relação ao estresse térmico, segundo Vieira (2013), a temperatura tem influência direta nas taxas de translocação dos solutos orgânicos, sendo a faixa ótima entre 20 a 30 °C. De modo geral, há aumento na translocação com aumentos na temperatura, que resultam em acúmulos significativos de carboidratos nos órgãos de reserva da planta, principalmente na forma de sacarose (PAULA, 2011).

### 3.7 PROTEÍNA

O milho está entre as principais fontes de alimentos para milhões de pessoas, principalmente na América Latina e África, no Brasil grande parte da utilização do milho é destinado à alimentação animal, cerca de 75% do milho produzido é destinado a ração animal (BRITO et al; 2013).

No endosperma estão também presentes as proteínas de reserva (8%) do tipo prolaminas, chamadas zeínas. Essas proteínas formam os corpos protéicos que compõem a matriz que envolve os grânulos de amido dentro das células no endosperma. (PAES; 2006)

O gérmen representa 11% do grão de milho e concentra quase a totalidade dos lipídeos (óleo e vitamina E) (83%) e dos minerais (78%) do grão, além de conter quantidades importantes de proteínas (26%) e açúcares (70%) (PAES; 2006).

A proteína do gérmen contribui com uma quantidade relativamente alta de certos aminoácidos, embora não forneça o bastante de proteína de alta qualidade. O gérmen fornece lisina e triptofano, dois aminoácidos essenciais limitantes na proteína do milho. A proteína do endosperma é pobre em lisina e triptofano, como a proteína do grão inteiro (CAPOBIANGO; 2006).

As proteínas do grão de milho podem ser classificadas em seis frações de acordo com, como albumina, globulina, zeína, glutelina 1, glutelina 2 e glutelina 3. A zeína é caracterizada pela classe de prolaminas, que ocorre especificamente em cereais. A Tabela 02 a seguir demonstra a distribuição das frações de proteínas e sua solubilidade. (CAPOBIANGO; 2006)

**Tabela 2:** Distribuição das frações de proteínas no Milho (% base seca)

| <b>- Distribuição das frações de proteínas no milho (% base seca)</b> |                     |                     |                   |               |
|---|---------------------|---------------------|-------------------|---------------|
| <b>Proteína</b>   | <b>Solubilidade</b> | <b>Grão inteiro</b> | <b>Endosperma</b> | <b>Gérmen</b> |
| Albumina  | água                | 8                   | 4                 | 30            |
| Globulina   | sal                 | 9                   | 4                 | 30            |
| Glutelinas  | álcali              | 40                  | 39                | 25            |
| Zeína   | álcool              | 39                  | 47                | 5             |

Fonte: SHUKLA et al., 2000.

O valor proteico de um alimento é determinado pela sua composição em aminoácidos essenciais, sendo que o aproveitamento biológico dos aminoácidos (biodisponibilidade) depende também da digestibilidade da proteína. Sendo assim, o

perfil aminoacídico fornece boa indicação da qualidade de proteínas alimentares. (NAVES et al; 2004)

As proteínas de reserva, encontradas em maior abundância no grão de milho, são ricas nos aminoácidos metionina e cisteína, mas são pobres em lisina e triptofano, essenciais à nutrição humana e de alguns monogástricos. Por esse motivo, a qualidade da proteína, em milhos normais, é baixa, as proteínas de reserva possuem quantidades elevadas dos aminoácidos glutamina, leucina, alanina e prolina, que conferem alta hidrofobicidade ao resíduo protéico extraído do endosperma no processo de produção do amido de milho (PAES; 2006)

Fatores ambientais, como a temperatura, afetam diretamente no acúmulo de proteínas totais da semente, possivelmente favorecendo o metabolismo no sentido de biossíntese de proteínas quando a temperatura se aproxima a 30 °C. (GONÇALVES et al; 2007)

Sob altas temperaturas, na fase de enchimento de grãos, a conversão da sacarose em proteínas e lipídios é reduzida, assim como ocorre uma redução das suas atividades enzimáticas (FLOSS, 2011).

A temperatura e o déficit hídrico, quando associado, restringe à transpiração e causa superaquecimento e agrava o estresse pelo calor. O estresse pelo calor inibe a fotossíntese e prejudica a função de membranas e a estabilidade proteica (MARCOS FILHO, 2005)

### **3.8 ETANOL DE MILHO**

Produção de etanol de milho, para utilização como biocombustível de transporte, é considerada uma tecnologia madura, utilizada nos Estados Unidos desde meados de 1900 (BOTHAST e SCHLICHER, 2005).

EUA tiveram iniciativas para obtenção de mais combustíveis de fontes renováveis, aumentando o subsídio na produção de etanol de milho. Subsidiados por meio de políticas públicas, como o crédito de imposto especial sobre o consumo de etanol e do crédito fiscal do pequeno produtor de etanol (MAXSWELL e DAVISON, 2014; USDA et al., 2002). O milho é responsável por ser a matéria-prima de mais de 90% do etanol produzido nos EUA (MORRIS e HILL, 2006).

De acordo com Milanez et al (2014) o ciclo de produção do milho é de 4 meses, sendo que possui a vantagem de armazenar os grãos, e da produção de milho safrinha. Mas apresenta algumas desvantagens produtivas em comparação com o etanol de cana-

de-açúcar, no entanto, o milho consome menos água (mm) no ciclo até a colheita, além de que o custo de colheita é menor.

A produção de etanol a partir de milho nos EUA atingiu 54,2 bilhões de litros no ano de 2014, sendo que o crescimento da produção de etanol superou o crescimento do milho consumido como matéria-prima. Se os rendimentos industriais de etanol tivessem permanecido nos níveis do ano de 1997, seria necessário moer um adicional de 7% de milho, para produzir a mesma quantidade de biocombustível (EIA, 2015).

A economia da geração de etanol é significativamente influenciada pelo custo dos insumos, correspondendo a metade do valor do produto final. Os processos de produção de etanol da partir de milho possuem produtividade em área (entre 7,5 a 10 t ha<sup>-1</sup>) (Tabela 3) pouco competitiva e exigem longos tempos de fermentação. Apesar disso, o desenvolvimento processual e industrial potencializa a redução de custos (KRISHNAN, 2000).

**Tabela 3:**Produtividade distintas matérias-primas

| Matéria-prima  | Produtividade em etanol (L/ha) |
|----------------|--------------------------------|
| Trigo          | 2.590                          |
| Mandioca       | 3.310                          |
| Milho          | 3.460 – 4.020                  |
| Cana-de-açúcar | 6.190 – 7.500                  |
| Microalgas     | 46.760 – 140.290               |

MUSSATTO et al. Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. *Biotechnology Advances*, v. 28, p. 817-830, 2010.

O processamento industrial de milho para a fabricação de etanol no Brasil ainda é muito recente no mercado. O etanol a partir do milho teve seu início do Estado do Mato Grosso em meados do ano de 2012, pioneiro e incentivado pela indústria canavieira mato-grossense. As indústrias mato-grossenses, chamadas desde então de destilaria/usina flex. (ROSSETO et al.2017)

Atualmente apenas dois estados produzem etanol a partir do milho no país, Goiás e Mato Grosso.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1- LOCALIZAÇÃO E CLIMA DA ÁREA EXPERIMENTAL

Foram realizados dois experimentos com a cultura do milho, na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins – UFT, campus de Palmas (220m de altitude, 10°45' S e 47°14' W), sendo um instalado em 10 de julho de 2015 e outro em 01 de Agosto de 2015, em solo do tipo Latossolo Vermelho Amarelo, com histórico de cultivo de batata doce nos últimos dois anos, e cujo resultado da análise físico-química, na profundidade de 0-20cm conforme Tabela 04.

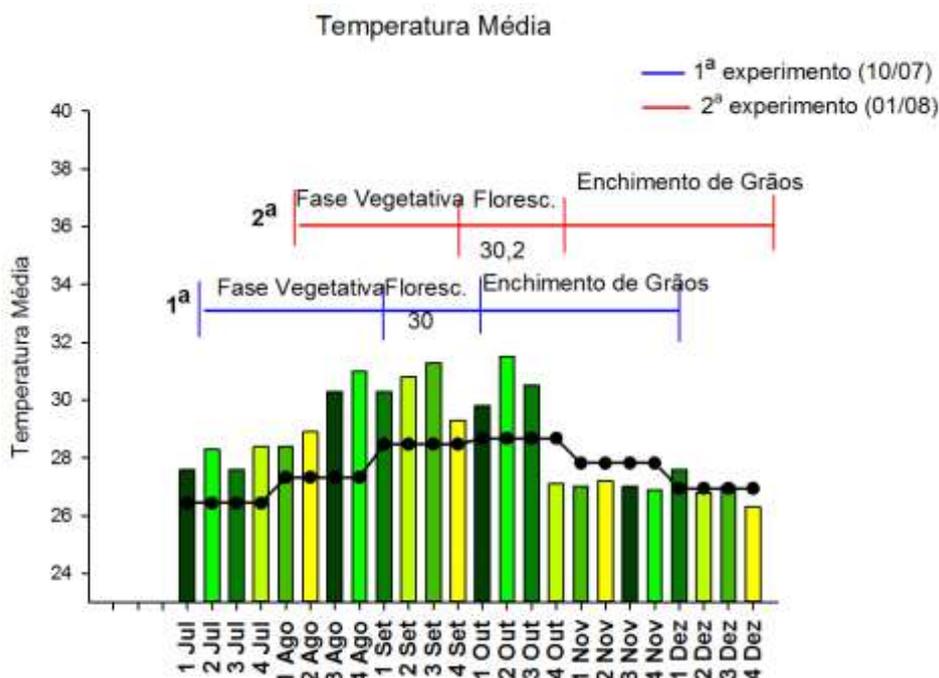
**Tabela 4:** Caracterização físico-química de 0-20 cm do solo utilizado nos ensaios 2015.

| M.O               | pH (CaCl2) | P <sub>(Melich)</sub>          | K  | Ca                               | Mg  | CTC  | S.B. (%) | Textura (%) | Classe        |
|-------------------|------------|--------------------------------|----|----------------------------------|-----|------|----------|-------------|---------------|
| g/dm <sup>3</sup> |            | ----- mg/dm <sup>3</sup> ----- |    | -----cmolc/dm <sup>3</sup> ----- |     |      |          | Argila: 23  |               |
| 19                | 6,50       | 35                             | 22 | 5,2                              | 2,8 | 9,41 | 86,18    | Silte: 6    | Franco Argilo |
|                   |            |                                |    |                                  |     |      |          | Areia: 71   | Arenosa       |

No gráfico 1 temos os dados da temperatura média mensal e semanal, registrados durante o período de condução dos ensaios experimentais (julho a dezembro de 2015), obtidos no laboratório de Meteorologia e Climatologia da Universidade Federal do Tocantins – UFT, Campus de Palmas, dados (UFT e INMET, 2015).

O Clima na região é classificado como tropical úmido, apresentando duas estações bem definidas: verão quente e úmido e inverno ameno e seco, conforme classificação (classificação climática de Koppen-Geiger: AW), (SEPLAN, 2003).

**Gráfico 1:** Temperatura média (°C) mensais e semanais ocorridas durante a condução dos ensaios experimentais na entressafra 2015.



## 4.2- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado em cada época de semeadura foi o de blocos casualizados (DBC) com 30 tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram dispostos em um esquema fatorial 2x3x5, representado por dois sistemas de manejo de inoculação das sementes (com e sem inoculação com *Azospirillum brasilense*), três genótipos de milho e cinco doses de nitrogênio (0, 50, 100, 150 e 200kg ha<sup>-1</sup>) realizadas em cobertura, utilizando sulfato de amônia, em doses fracionada em partes iguais. A primeira metade foi aplicada no estágio V4 (quatro folhas completamente desenvolvidas) e a segunda metade no estágio V6 (seis folhas completamente desenvolvidas), conforme a escala de. (RITCHIE et al. 2003).

A parcela experimental foi representada por duas fileiras de três metros e espaçadas de um metro com área útil de 6m<sup>2</sup>.

### 4.2.1-CARACTERÍSTICAS DAS VARIEDADES

As variedades utilizadas no presente trabalho foram Al Bandeirante, variedade de polinização aberta, e os Híbridos Duplo Orion e AG-1051) no gráfico 2 está representando as principais características.

**Gráfico 2:**Características dos genótipos utilizados nos ensaios experimentais na entressafra 2015.

| Características        | Orion  | Al-Bandeirante   | AG-1051   |
|------------------------|--|--|---|
| <b>Tipo</b>            | Híbrido Duplo  | Variedade  | Híbrido Duplo   |
| <b>Região indicada</b> | Norte, Nordeste e Centro-Oeste                       | Recomendado para todos os estados  | Todas as regiões do Brasil                            |
| <b>Ciclo</b>           | Precoce  | Semi-precoce   | Semi precoce  |
| <b>Resistências</b>    | A pragas e doenças, ao acamamento e estresse hídrico | Ao acamamento e resistente a algumas pragas do estado de São Paulo                 | Estresse hídrico,                                     |
| <b>Tecnologias</b>     | Poucas exigências                                    | Poucas exigências  | Alta exigências                                       |
| <b>Uso</b>             | Grão   | Grão e Silagem   | Grão, Silagem e Milho Verde                           |
| <b>Observações</b>     |  | Solos de pouca fertilidade, Super-Rustica  | Alta produção de matéria seca e proteína para silagem |
| <b>Fonte</b>           | Site da bionacional, Pena-C. Cultivares de Milho     | Site da selegraos, Departamento de Sementes, Mudas e Matrizes/CATI, Grupo Facholix | Pena-C. Cultivares de Milho, Site sementes agroceres  |

Fonte: Própria

### 4.3- CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS

O preparo do solo foi realizado através de aração e gradagem niveladora convencional, seguida de sulcamento. A adubação de pré-plantio foi realizada manualmente, conforme exigências da cultura e após prévia análise do solo, utilizando 70kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> no sulco de semeadura, utilizando superfosfato simples, foi também aplicado na adubação de base com K<sub>2</sub>O na dose de 48kg ha<sup>-1</sup> de cloreto de potássio, sendo metade no sulco de semeadura, e a outra metade no estágio V6 (sexta folha completamente desenvolvida).

No momento da semeadura, foi realizada inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* na dosagem de 400mL.ha<sup>-1</sup> do produto comercial GRAP NO, estirpes AbV5 e AbV6.

Os tratos culturais, como o controle de plantas daninhas foram realizados através da aplicação de herbicida *Atrazina* (Atrazinax®), imediatamente após a semeadura, nas doses recomendadas para cultura do milho (receita do fabricante) e posteriormente foram realizadas capinas quando necessárias. Não houve necessidade de controle de doenças e

pragas. A irrigação suplementar foi realizada sempre que necessária, utilizando aspersores tipo canhão.

A colheita foi realizada quando os grãos atingiram a maturidade fisiológica (plantas em estágio R6). Colhendo-se todas as espigas das duas fileiras de cada parcela experimental. Em seguida as espigas foram trilhadas e os grãos acondicionadas em um único saco de papel, identificados por tratamento e transportado para o Laboratório do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins - Campus de Palmas, onde foi realizada a moagem.

#### **4.5.- VARIÁVEIS ANALISADAS EM LABORATÓRIO**

##### **4.5.1.-PROTEINA (%)**

No laboratório, para cada tratamento, os grãos foram moídos, sendo determinado o teor de proteína (%) dos grãos, utilizando o método de Kjeldahl (AOAC; 1995). Por este método, foram pesadas 0,5g de amostras, acrescentado em tubos, suspensão a 2g de mistura catalítica (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O), em seguida misturado a 10ml de ácido sulfúrico e colocado para digerir no bloco digestor com a chapa a 450°C levando de 3 a 4 horas.

Formula utilizada (VILLEGAS et al. 1985):

$$\text{Proteína total (\%)} = \frac{V \times f \times 0,0014 \times 6,25 \times 100}{\dots}$$

Onde:

V = volume gasto de HCl 0,1N

f = fator do HCl 0,1N

0,0014 = miliequivalente grama do nitrogênio

6,25 = fator de conversão geral do nitrogênio em proteína

Neste caso, as determinações foram realizadas na matéria seca, utilizando-se três repetições laboratoriais por amostra de cada material.

##### **4.5.2-CARBOIDRATO**

###### **4.5.2.1- HIDROLISE ENZIMÁTICA**

Para o processo inicial da hidrólise, as amostras (moídas) foram suspensas em solução tampão (Citrato de Sódio/ Fosfato de Sódio) na proporção de 1.300 L, sendo que foram pesadas em um tubo de ensaio de 100 ml, 1g da amostra, e posteriormente

acrescentado 40 ml de solução tampão a fim de ajustar o pH do mosto em (0,05 M, pH 5,0), então a solução foi aquecida gradualmente até atingir temperatura de 60°C.

Depois que a temperatura estava estabilizada foi adicionada a enzima liquidificante  $\alpha$ -amilase (Liquozyme® Supra 2.2x) na concentração de 30  $\mu$ l/g de farinha. A partir desse momento a temperatura foi elevada para 90°C gradualmente e mantida por 2 horas para a ação da enzima.

Após a ação enzimática, o meio foi resfriado até atingir a temperatura de 60°C e a enzima sacarificante amiloglucosidade (AMG 300L), foi adicionada na concentração de 40  $\mu$ l/g de farinha. Para esta etapa, o tempo de atuação da enzima foi de 3 horas

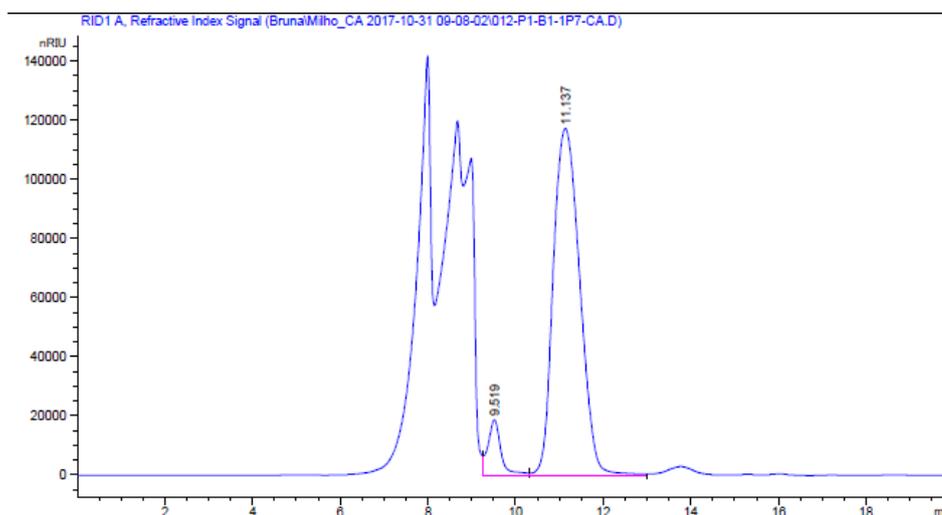
#### 4.5.2.2-CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (HPLC)

As amostras hidrolisadas foram filtradas em filtro de seringa, PVDF 0,22 $\mu$ m, 1,5ml em tubos vial rosca, o HPLC foi realizado no equipamento Agilent modelo: 1260 infinity II, coluna cromato-gráfica: Hi-plex Ca (300x7,7 mm), detector: índice de refração (RID).

Em condições: foi injetado (volume da injeção 20 $\mu$ m) a amostra na coluna com temperatura de forno 85°C, fluxo de injeção 0,6ml/min, temperatura do detector 45°C, eluição isocrática, fase móvel água deionizada (milli-Q).

Foi realizado um calculo para transformar os dados em quantidade de carboidrato.

**Gráfico 3:**Após a leitura no HPLC da amostra de milho (moída) e hidrolisada.



Fonte própria.

#### **4.6- ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS**

As médias dos tratamentos (épocas de semeadura, dos genótipos e dos processos com e sem inoculação), foram comparadas pelo critério de Scott Knott, ao nível de 5% de probabilidade. Para as doses de N, em cada genótipo, foram realizadas análises de regressão, através do uso de polinômios ortogonais, e uma vez estabelecida a relação funcional entre as doses e o genótipo foi determinada a equação de regressão.

Os programas estatísticos utilizados foram o SISVAR 5.0 (FERREIRA, 2011), e SIGMAPLOT software 12.5.

## 5.RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ANALISE DE VARIÂNCIA CONJUNTA

A análise de variância conjunta (tabela 05) para teor de proteína (%) e carboidratos (%), revelou efeito significativo de 5% para todos os fatores, excetuando-se apenas para os blocos.

A significância das interações quadrupla, indica que os efeitos dos fatores isolados não explicam toda a variação encontrada, sendo assim realiza-se os desdobramentos.

**Tabela 5:** Análise de Variância Conjunta do teor de proteína (%) e de carboidrato (%) em três genótipos de milho, com e sem inoculação de *Azospirillum brasilense*, em diferentes doses de nitrogênio e épocas de semeadura, em Palmas- TO, na entressafra 2015.

| <b>Quadrado Médio</b>                     |    |                     |                     |
|---|----|---------------------|---------------------|
| FV  | GL | Proteína (%)        | Carboidrato (%)     |
| ÉPOCA                                     | 1  | 15.0*               | 291.1*              |
| CULTIVAR                                  | 2  | 5.2*                | 1.257,0*            |
| PROCESSOS INOCULAÇÃO (C/A e S/A)          | 1  | 26.7*               | 519.1*              |
| NITROGÊNIO                                | 4  | 12.9*               | 346.71*             |
| REPETIÇÕES (Bloco)                        | 4  | 0.144 <sup>ns</sup> | 15.81 <sup>ns</sup> |
| ÉPOCAS x CULTIVAR                         | 2  | 0.43*               | 1297.2*             |
| ÉPOCAS x C/A e S/A                        | 1  | 7.26*               | 681.6*              |
| ÉPOCAS x NITROGÊNIO                       | 4  | 0.35*               | 76.46*              |
| CULTIVAR x C/A e S/A                      | 2  | 1.45*               | 60.96*              |
| CULTIVAR x NITROGÊNIO                     | 8  | 0.99*               | 94.97*              |
| C/A e S/A x NITROGÊNIO                    | 4  | 1.80*               | 33.52*              |
| EPOCAS x CULTIVAR x C/A e S/A             | 2  | 0.90*               | 121.5*              |
| EPOCAS x CULTIVAR x NITROGÊNIO            | 8  | 2.42*               | 63.69*              |
| CULTIVAR x C/A e S/A x NITROGÊNIO         | 8  | 1.90*               | 263.6*              |
| EPOCAS x C/A e S/A x NITROGÊNIO           | 4  | 0.40*               | 216.9*              |
| ÉPOCA x C/A e S/A x CULTIVAR x NITROGÊNIO | 8  | 1,21*               | 66.44*              |
| Erro                                      |    | 116                 | 116                 |
| CV(%)                                     |    | 3,23                | 5.50                |
| Média Geral                               |    | 7.50                | 40.56               |

\*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F; ns - Não significativo.

Os coeficientes de variação foram baixos, tanto para o teor de proteína (3,23%), quanto para o teor de carboidrato (5,50%), indicando boa precisão no desenvolvimento dos experimentos.

Segundo classificação proposta por Pimentel – (GOMES; 2009), o coeficiente de variação (CV) é classificado como baixo quando menor do que 10%; médio, quando de 10 a 20%; alto, de 20 a 30%.

## **5.2.-PROTEINA**

### **5.2.1 COMPARAÇÃO ENTRE MEDIAS**

Comparando as médias das épocas de semeaduras (1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup>) dentro do mesmo manejo de inoculação (com e sem), do mesmo genótipo e da mesma dose de N, revelou um maior conteúdo de proteico para todas as cultivares no sistema de manejo com e sem inoculação de *Azospirillum* na primeira época.

O maior teor de proteína na primeira época de semeadura, (10/07) (gráfico 2) ocorreu, provavelmente, em função da ocorrência de temperaturas mais amenas nas fases vegetativas e reprodutivas (média de 30°C) em relação à segunda época de semeadura (01/08) (média de 30,2°C), que favoreceram a sobrevivência das bactérias e, por fim, a fixação biológica do nitrogênio.

Segundo Dartora, et al.,(2013) em seu trabalho envolvendo doses de N e inoculação com *A. brasilienses* e *H. seropedicae* na cultura do milho, tanto a atividade quanto a sobrevivência da bactéria são influenciadas por diversos fatores ambientais como temperaturas elevadas e baixa disponibilidade de água.

Fatores ambientais, como a temperatura, afetam diretamente no acúmulo de proteínas totais da semente, possivelmente favorecendo o metabolismo no sentido de biossíntese de proteínas quando a temperatura se aproxima a 30 °C. (GONÇALVES et al; 2007). Por outro lado, sob altas temperaturas, na fase de enchimento de grãos, a conversão da sacarose em proteínas e lipídios é reduzida, assim como ocorre uma redução das suas atividades enzimáticas (FLOSS, 2011).

Segundo Prasad et al. (2001) somente um dia de estresse térmico a 40 °C, durante a fase mais sensível da floração, provoca redução de 90% na produtividade do grãos no amendoim.

Tabela 6:: Médias do teor de Proteína (%) em três genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada e processos com e sem inoculação de Azospirillum brasilense, em duas épocas de semeadura, em Palmas-TO, na entressafra 2015

|            | ÉPOCA 1 (10/07) |           |          |          |          |          | ÉPOCA 2 (01/08) |          |          |          |          |          |
|------------|-----------------|-----------|----------|----------|----------|----------|-----------------|----------|----------|----------|----------|----------|
|            | C/A             |           |          | S/A      |          |          | C/A             |          |          | S/A      |          |          |
|            | Orion           | Al Band.  | AG 1051  | Orion    | Al Band. | AG 1051  | Orion           | Al Band. | AG 1051  | Orion    | Al Band. | AG 1051  |
| <b>0</b>   | 6,81 aA2        | 8,77 bA1  | 7,58 aA2 | 6,43 aB2 | 6,46 aB1 | 5,11 aB2 | 7,26 aA1        | 6,66 aA2 | 6,86 aA2 | 6,40 bB2 | 6,03 bB2 | 5,33 bB1 |
| <b>50</b>  | 8,50 aA1        | 8,14 aA1  | 8,28 aA1 | 7,81 aB1 | 6,97 aB2 | 6,45 aB3 | 7,13bA2         | 7,63 bA1 | 6,03 bB3 | 6,83 bA1 | 7,83 bA2 | 6,60 bA1 |
| <b>100</b> | 10,06 aA2       | 8,06 bA1  | 7,26 aA2 | 7,58 aB2 | 6,99 aB1 | 6,65 aB2 | 7,03 bA2        | 7,23 aA1 | 7,66 aA1 | 6,20 bB1 | 6,90 bA2 | 6,90 bB2 |
| <b>150</b> | 9,37 aB3        | 10,10 bA1 | 7,55 aB2 | 7,16 aA1 | 7,74 aB2 | 8,45 aA3 | 7,70 bA1        | 8,16 aA1 | 7,63 bB1 | 7,60 bA1 | 7,63 bB1 | 7,50 aA1 |
| <b>200</b> | 7,15 aA1        | 9,53 aA2  | 8,55 aA3 | 8,30 bB2 | 7,42 aB1 | 8,61 aA2 | 7,66 aA1        | 9,16 bA2 | 7,16 bA2 | 7,60 aA1 | 8,30 bA2 | 7,83 aB1 |

1-médias dos processos de inoculação C/A E S/A dentro da mesma época, do mesmo genótipo e da mesma dose de n, seguido pela mesma letra Maiúscula, na linha pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de scott knott a 5% de probabilidade.

2 -médias das épocas de semeaduras (1ª e 2ª) dentro do mesmo processo, do mesmo genótipo e da mesma dose de n, seguido pela mesma letra Minúscula, na linha pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de scott knott a 5% de probabilidade.

3- médias dos genótipos dentro de cada processo de inoculação, da mesma época de semeadura e mesma dose de n, seguido pelo mesmo Número, na coluna pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de scott knott a 5% de probabilidade.

Nas culturas do tomate (SILVA et al. 2000), feijão-caupi (NASCIMENTO et al; 2011) e do feijoeiro (DIDONET & VITÓRIA 2006), também foram observados os efeitos da alta temperatura na redução de ciclo, no aumento na atividade respiratória, na redução na taxa de assimilação de gás carbônico, no aumento de biomassa e na redução na produtividade de grãos.

Cargnin et al; (2006) observaram que a redução do rendimento de grãos de trigo, cultivado sob estresse térmico, pode ser causada pela acelerada fase de desenvolvimento, acelerada senescência, aumento na taxa respiratória, redução na fotossíntese e consequente inibição da síntese do amido, durante o desenvolvimento do grão.

Comparando as médias dos manejos de inoculação C/A e S/A dentro da mesma época, do mesmo genótipo e da mesma dose de N, revelou que a inoculação com *Azospirillum* independentemente das cultivares e época, resultou em maior conteúdo proteico.

As bactérias diazotróficas em plantas, a exemplo do *Azospirillum. brasilense*, dependendo do ambiente e da interação com a planta, podem converter o nitrogênio atmosférico e disponibilizá-lo para as plantas, resultando em alterações na composição do grão. (SOUZA et al; 2014).

A inoculação com *Azospirillum spp.* pode resultar em variação significativa em parâmetros de cereais (biomassa, altura da planta, tamanho de folha, número de perfilho e teor de nitrogênio nos tecidos e grão), devido a melhor absorção de nutrientes, proporcionado pelo aumento no comprimento de raiz e volume, induzido por fitohormônios (auxina e giberelina) produzidos pela bactéria e liberados para a planta (SALANTUR; OZTURK; AKTEN, 2006).

Os genótipos (Orion, Al Band e AG 1051) de desatacaram no manejo com inoculação, independente da época e da dose de N.

Vários trabalhos mostram que o genótipo interfere na resposta á inoculação de diazotrofos em gramíneas, (AVIVI & FELDMAN;1982) com o trigo, (GARCIA et al; 1996) no milho, e (BOUTON et al; 1985) no milheto.

Estudo entre as médias dos genótipos dentro de cada manejo de inoculação da mesma época de semeadura e mesma dose de N.

As médias das cultivares, dentro de cada época e em cada dose de N., revelou na primeira época e no manejo de inoculação, Al Band. apresentou maior teor de proteína (%) em todas as doses exceto na dose de N (200 kg há<sup>-1</sup>), Orion obteve um incremento

maior nas doses de N (50 e 200 kg há<sup>-1</sup>), na primeira época e no manejo sem inoculação, as variedades Al Band. teve um aumento nas doses de N. (100 e 200 kg há<sup>-1</sup>), Orion teve um maior teor de proteína (%) nas doses de N (50 e 150 kg há<sup>-1</sup>).

Na segunda época, independente do manejo e das doses de N a cultivar Orion obteve um maior teor de proteína (%).

As diferenças no teor de proteína dos grãos podem estar relacionadas, entre outras variáveis, às práticas agronômicas empregadas no cultivo do milho. É relatado, na literatura, que diferentes teores de adubação nitrogenada influenciam na produtividade e no teor de proteína do grão.

Ferreira et al. (2001) verificaram que, para cada dose de nitrogênio aplicada (entre 0 kg ha<sup>-1</sup> e 210 kg ha<sup>-1</sup>), o teor de proteína no grão aumentava significativamente (39,1%), passando de 7,5 g 100 g<sup>-1</sup> para 10,5 g 100 g<sup>-1</sup>. Em outro estudo, em que foram usados 180 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, observou-se um incremento de 20% no teor de proteína dos grãos. (CASTRO et al; 2009).

Segundo Dartora, et al.,(2013) em seu trabalho envolvendo doses de N e inoculação com *A. brasilienses* e *H. seropedicae* na cultura do milho, tanto a atividade quanto a sobrevivência da bactéria são influenciadas por diversos fatores ambientais como temperaturas elevadas e baixa disponibilidade de água.

Os efeitos da adubação nitrogenada e da inoculação com *Azospirillum* sp. na nutrição e produtividade do milho dependem do cultivar utilizada e das condições edafoclimáticas vigentes. (DUARTE et al; 2012).

Segundo Bashan et al. (2004), a inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum*, resultam em plantas mais saudáveis, mais produtivas, com maior capacidade fotossintética.

A resposta positiva das plantas à inoculação com bactérias diazotróficas pode ser atribuída a outros fatores, além da produção de substâncias promotoras do crescimento, tais como proteção contra fitopatógenos, alteração da atividade metabólica através de efeitos sobre as membranas celulares (BASHAN et al., 2004), solubilização de fosfatos, aumento da resistência das plantas ao estresse e a própria fixação biológica de nitrogênio. (DARTORA et al; 2013).

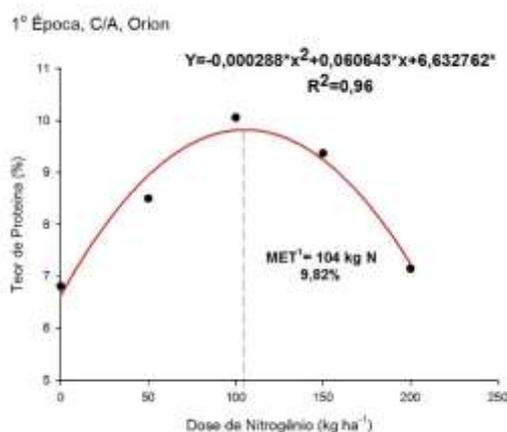
## 5.2.2 REGRESSÃO POLINOMIAL

Para cada um dos genótipos, foi possível estabelecer uma relação funcional entre o teor de proteína (%) e as doses de N, para cada uma das épocas de semeadura e em cada um dos sistemas de manejo (C/A e S/A).

Para a cultivar Orion, no sistema de manejo (C/A) e na 1ª época de semeadura (figura 1) apresentou, foi ajustado modelo quadrático com aumento no teor de proteína até alcançar a máxima eficiência técnica (MET) de 9,82% na dose de N de 104 kg há<sup>-1</sup>. A partir da dose que resultou na MET, houve uma redução percentual de proteína.

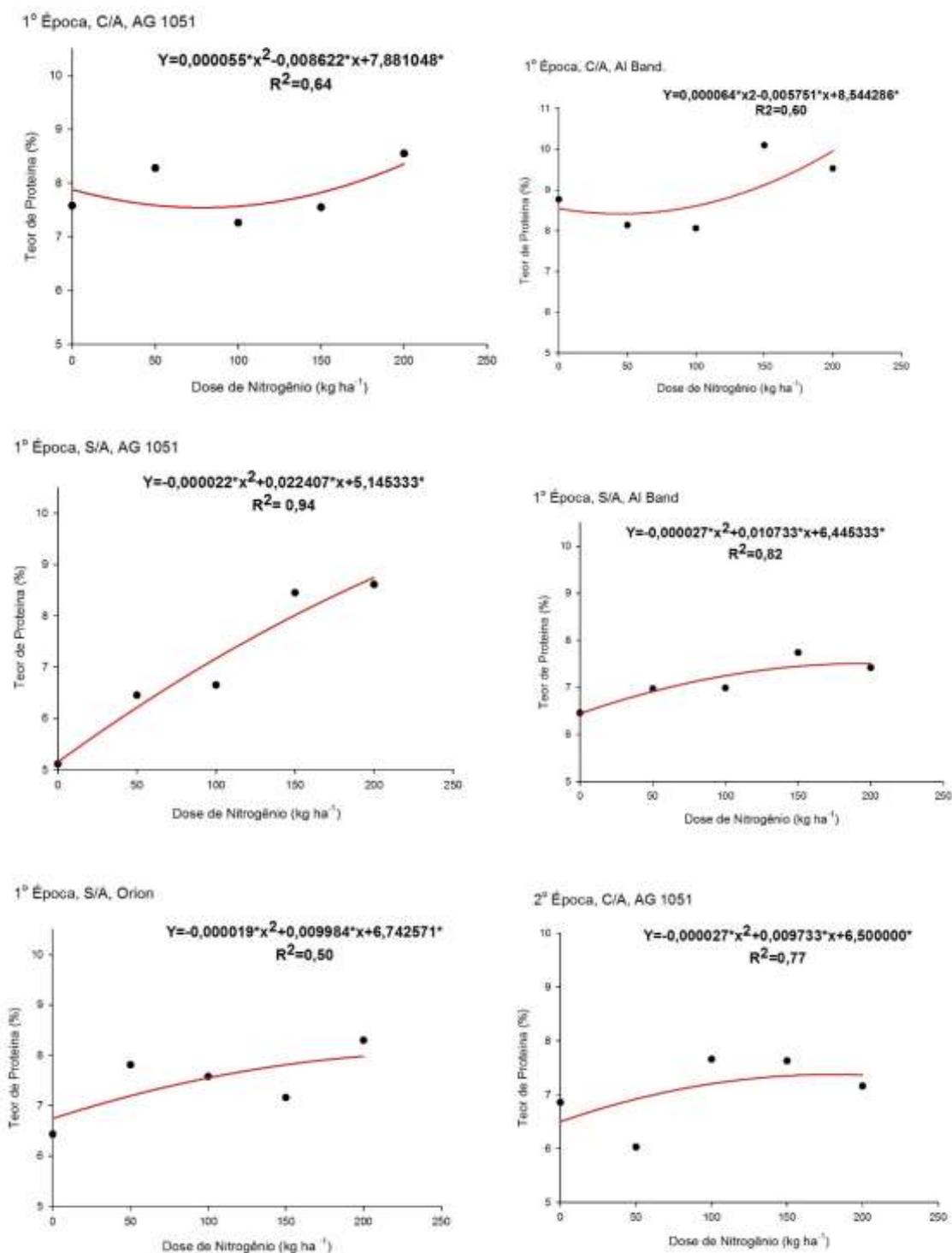
Para esta dose que resultou na MET de cada genótipo, houve uma redução no teor de proteína (%), provavelmente, em função do efeito antagônico do N na absorção de outros elementos, principalmente o potássio, prejudicando o desenvolvimento das plantas (CARNICELLI et al., 2000; PERRENOUD, 1977; MALAVOLTA, 1980).

**Figura 1:** Teor de proteína (%) em genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada entre épocas diferentes e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015. \*significativo a 5% de probabilidade pelo teste t, 1Maxima Eficiência Técnica.

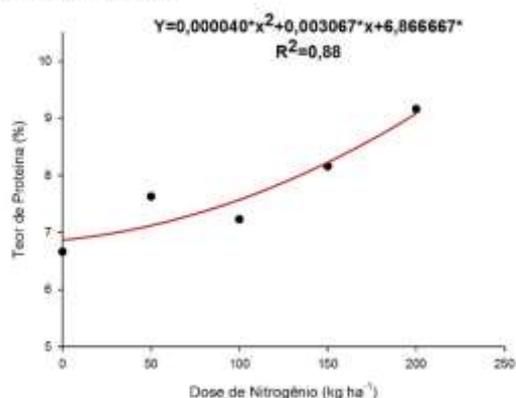


Por outro lado, para os genótipos AL Band e AG 1051, nos sistemas de manejo C/A e S/A, e na 1ª e 2ª épocas, e Orion no sistema de manejo S/A e na 2ª época, o modelo quadrático foi o mais adequado, onde as doses de N utilizadas no presente estudo não foram suficientes para que as mesmas alcançassem o máximo teor de proteína (figura 2). Neste caso, como não foi obtido o máximo teor de proteína, há a necessidade de que sejam realizados estudos com outras doses de nitrogênio.

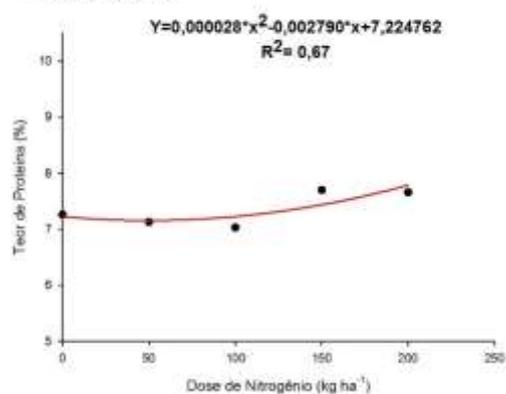
**Figura 2:** Teor de proteína (%) em genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada entre épocas diferentes em Palmas – TO, entressafra 2015. \*significativo a 5% de probabilidade pelo teste t, <sup>1</sup>Maxima Eficiência Técnica



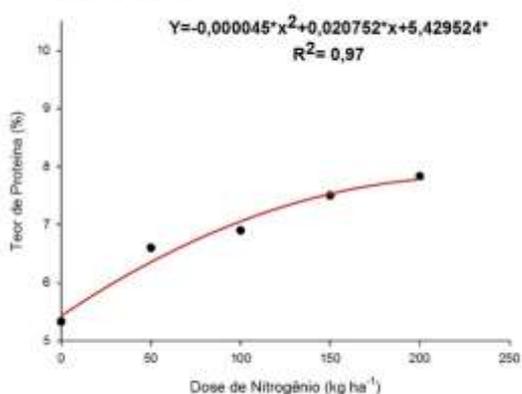
2ª Época, C/A, Al Band.



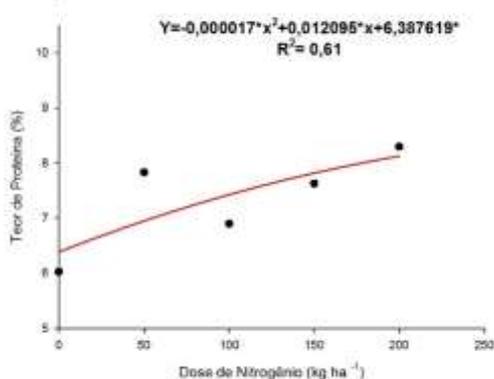
2ª Época, C/A, Orion



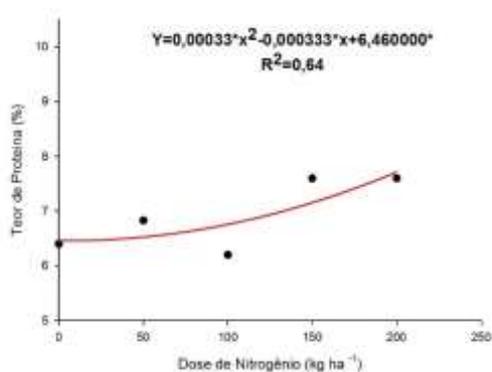
2ª Época, S/A, AG 1051



2ª Época, S/A, Al Band.



2ª Época, S/A, Orion



O nitrogênio (N) é considerado um dos maiores fatores de produção responsáveis pelo acréscimo da produtividade e da proteína dos grãos de milho. (AMADO et al., 2002).

O estímulo proporcionado pela adubação nitrogenada no desenvolvimento da planta como um todo é devido ao fato de N estar intimamente ligadas ao processo de crescimento da planta participando da constituição de proteínas, enzimas, coenzimas,

ácidos nucleicos, fitocromos, pigmentos fotossintéticos etc. (BULL; 1993; . (DARTORA et al; 2013).

Além disto, o N favorece o crescimento do sistema radicular propiciando, a planta, condições para maior absorção de água e nutrientes (RAO et al., 1992). Assim, o crescimento da planta é favorecido e, conseqüentemente, promove aumento da área fotossinteticamente ativa da planta e síntese de fotoassimilados, que são transloucados para os grãos. (BÜLL, 1993).

O teor de proteína tem relação direta com a disponibilidade de N (LEMOS, 2011), uma vez que a formação de grãos está intimamente ligada a translocação de açúcares na planta. A sacarose e o nitrogênio contidos nos órgãos vegetativos são levados das fontes (órgãos produtores ou de armazenamento) até os drenos (partes vegetativas, reprodutivas e/ou em déficit fotossintético) para garantir o desenvolvimento das espigas e dos grãos. Assim, grande parte do N transloucado para o grão será armazenado na forma de proteína. (BASI; 2013).

Mascarello & Zanão Junior (2015), ao trabalharem com três doses de N aplicadas em cobertura (0, 25 e 50 kg ha<sup>-1</sup> de N) associadas à inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilens*, verificaram que a adubação nitrogenada em cobertura influenciou de forma positiva o teor de proteína nos grãos. Por outro lado, a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* não afetou significativamente o conteúdo de proteína.

Amaral Filho *et al.* (2005), Prando et al. (2012) e Souza et al. (2014) também notaram aumento no teor de N nos grãos com o incremento das doses de N no plantio. O aumento de N nos grãos é interessante, dada sua associação com o aumento no teor de proteínas.

Ferreira et al. (2001) verificaram que, para cada dose de nitrogênio aplicada (entre 0 kg ha<sup>-1</sup> e 210 kg ha<sup>-1</sup>), o teor de proteína no grão aumentava significativamente (39,1%), passando de 7,5 g 100 g<sup>-1</sup> para 10,5 g 100 g<sup>-1</sup>. Em outro estudo, em que foram usados 180 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, observou-se um incremento de 20% no teor de proteína dos grãos. (CASTRO et al; 2009).

O genótipo AG 1051, em comparação com os demais, apresentou um maior incremento no teor de proteína nos grãos em função de doses de N, nos manejos S/A e C/A. Tal fato pode ter ocorrido em virtude de o mesmo ser um híbrido duplo, ou seja, ser indicado para cultivo em condições onde o nível tecnológico empregado seja alto, respondendo sobremaneira á melhoria do ambiente.

Segundo Roesch et al., 2006 e Hungria, 2011, os resultados da interação bactérias diazotróficas e milho em termos de potencial agrônomico, fixação de nitrogênio ou promoção do crescimento, depende de muitos fatores bióticos e ambientais, tais como genótipo da planta, comunidade microbiológica do solo e disponibilidade de nitrogênio (ROESCH et al., 2006).

Ressalta-se, que o genótipo AL Bandeirante, nos sistemas de manejo S/A e C/A e na 1ª e 2ª épocas de semeadura, apresentou um maior conteúdo proteico nos grãos sob baixa disponibilidade de N no solo. Isso decorreu pelo fato de ser uma variedade de polinização aberta, que apresenta alta rusticidade, ampla adaptabilidade e estabilidade produtiva, sendo, portanto, recomendado para solos de baixa a até solos de alta fertilidade.

### **5.3- CARBOIDRATO**

#### **5.3.1- COMPARAÇÃO ENTRE MÉDIAS**

O estudo comparativo entre as médias dos manejos de inoculação C/A e S/A dentro da mesma época, do mesmo genótipo e da mesma dose de N, revelou que Al Band. apresentou maior produção no manejo sem inoculação, a cultivar Orion obteve melhor rendimento no manejo sem inoculação na primeira época e na segunda época no manejo com inoculação, com exceção da dose de N (50 kg há<sup>-1</sup>) e o híbrido AG 1051 na primeira e na segunda época obtiveram melhor resposta no manejo sem inoculação, exceto da dose de N (50 kg há<sup>-1</sup>) na primeira época e na dose de N (100 kg há<sup>-1</sup>).

A inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* pode estar relacionada capacidade de a bactéria disponibilizar para a planta parte do N<sub>2</sub> fixado. Ou ainda, ao acesso da planta ao N disponível no solo, em virtude da mineralização da matéria orgânica e o N proveniente da adubação mineral; provavelmente, em função do aumento da atividade de enzimas fotossintéticas (QUEIROZ; 2014). No caso do fornecimento excessivo de N a planta aumenta a síntese de proteínas e a formação de novos tecidos, usando a maior parte dos carboidratos na elaboração de proteínas e aminoácidos. (DARTORA; 2012).

O estudo entre as médias dos genótipos dentro de cada processo de inoculação, da mesma época de semeadura e mesma dose de N, observou que na primeira época independente do manejo com e sem inoculação a cultivar Orion obteve uma maior

*Tabela 7* : Médias do Carboidrato (%) em três genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada e processos com e sem inoculação de *Azospirillum brasilense*, em duas épocas de semeadura, em Palmas-TO, na entressafra 2015

|            | ÉPOCA 1 (10/07) |           |           |           |           |           | ÉPOCA 2 (01/08) |           |           |           |           |           |
|------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|            | C/A             |           |           | S/A       |           |           | C/A             |           |           | S/A       |           |           |
|            | Orion           | Al Band.  | AG 1051   | Orion     | Al Band.  | AG 1051   | Orion           | Al Band.  | AG 1051   | Orion     | Al Band.  | AG 1051   |
| <b>0</b>   | 39,45 Aa1       | 47,21 Bb1 | 44,80 Ab2 | 46,25 Bb1 | 32,19 Aa1 | 52,13 Bc2 | 46,79 Ab2       | 52,46 Bc2 | 35,58 Aa1 | 48,91 Ab1 | 41,07 Aa2 | 43,64 Ba1 |
| <b>50</b>  | 44,65 Bb1       | 33,64 Ba1 | 44,74 Ab2 | 35,21 Ab1 | 29,39 Aa1 | 50,75 Bc2 | 54,93 Bc2       | 44,67 Bb2 | 40,38 Ba1 | 48,16 Ab2 | 39,09 Aa2 | 35,83 Aa1 |
| <b>100</b> | 63,46 Bb1       | 29,94 Aa2 | 55,75 Bb2 | 35,98 Ab1 | 31,74 Aa1 | 42,02 Ac1 | 45,72 Ac1       | 24,45 Aa1 | 41,97 Ab1 | 45,73 Aa2 | 43,59 Ba2 | 46,07 Ba2 |
| <b>150</b> | 38,34 Bb1       | 32,67 Ba2 | 46,96 Bc2 | 31,30 Ab1 | 19,25 Aa1 | 41,49 Ac2 | 50,19 Bc2       | 28,20 Aa1 | 41,30 Bb1 | 46,43 Ab2 | 44,18 Bb2 | 25,93 Aa1 |
| <b>200</b> | 37,78 Bb1       | 32,89 Aa1 | 51,81 Bc2 | 29,71 Ab1 | 23,91 Aa1 | 33,44 Ac1 | 44,95 Ac2       | 33,72 Aa1 | 38,56 Bb1 | 46,67 Ab2 | 43,28 Bb2 | 32,72 Aa1 |

1-Médias dos processos de inoculação C/A e S/A dentro da mesma época, do mesmo genótipo e da mesma dose de n, seguido pela mesma letra Maiúscula, na linha pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

2 -Médias das épocas de semeaduras (1ª e 2ª) dentro do mesmo processo, do mesmo genótipo e da mesma dose de n, seguido pelo mesmo Número, na linha pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

3- Médias dos genótipos dentro de cada processo de inoculação, da mesma época de semeadura e mesma dose de n, seguido pela mesma letra Minúscula, na coluna pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de scott knott a 5% de probabilidade.

produção, já na segunda época nos manejos com e sem inoculação as cultivares Orion e AG 1051 produziram mais carboidrato.

Isso evidencia que os híbridos respondem de formas diferenciadas a produção de carboidratos, evidenciado pelo efeito significativo da interação tratamentos x ambientes. (TAUBINGER; 2012).

Influências geográficas e ambientais podem gerar associações diferentes entre bactérias diazotróficas endofíticas e plantas de milho, ocasionando resultados bastante variáveis em relação a inoculação (ROESCH et al; 2006).

Analisando o estudo entre as médias das épocas de semeaduras (1ª e 2ª) dentro do mesmo processo, do mesmo genótipo e da mesma dose de N, as cultivares Al Band. e Orion independente do manejo de inoculação (com ou sem), obteve melhor produção na primeira época, já , o híbrido AG 1051 independente do manejo de inoculação (Com e Sem *Azospirillum*) obteve maior rendimento de carboidrato na segunda época.

Com relação ao estresse térmico, segundo Vieira (2013), a temperatura tem influência direta nas taxas de translocação dos solutos orgânicos, sendo a faixa ótima entre 20 a 30 °C. De modo geral, há aumento na translocação com aumentos na temperatura, que resultam em acúmulos significativos de carboidratos nos órgãos de reserva da planta, principalmente na forma de sacarose (PAULA, 2011).

Além disso, sob altas temperaturas, na fase de enchimento de grãos, a conversão da sacarose em proteínas e lipídios é reduzida, assim como ocorre uma redução das suas atividades enzimáticas (FLOSS, 2011).

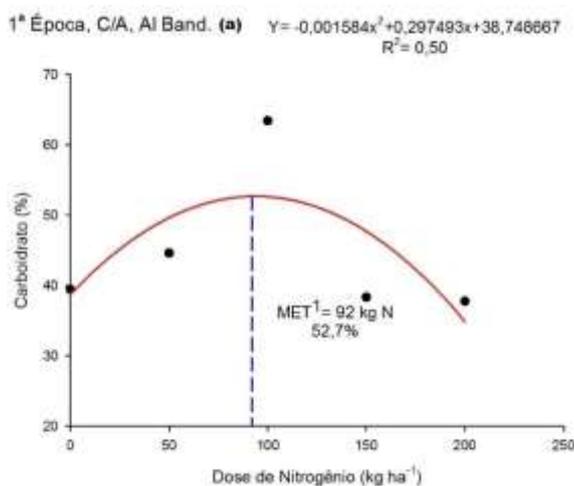
O estresse térmico na cultura do milho limita desenvolvimento da espiga e a translocação de carboidratos para os grãos, além de afetar a resposta da planta ao nitrogênio (MODESTO et al; 2016)

### **5.3.2- REGRESSÃO POLINOMIAL**

Para cada um dos genótipos, foi possível estabelecer uma relação funcional entre o teor de carboidratos (%) e as doses de N, para cada uma das épocas de semeadura e em cada um dos sistemas de manejo (C/A e S/A).

Para a cultivar Al Band. No sistema de manejo (C/A) e na 1ª época de semeadura (Figura 3) foi ajustado modelo quadrático com aumento no teor de carboidrato até alcançar a máxima eficiência técnica (MET) de 52,7 % na dose de N de 92 kg há-1. A partir da dose que resultou a MET, houve uma redução no percentual de carboidrato.

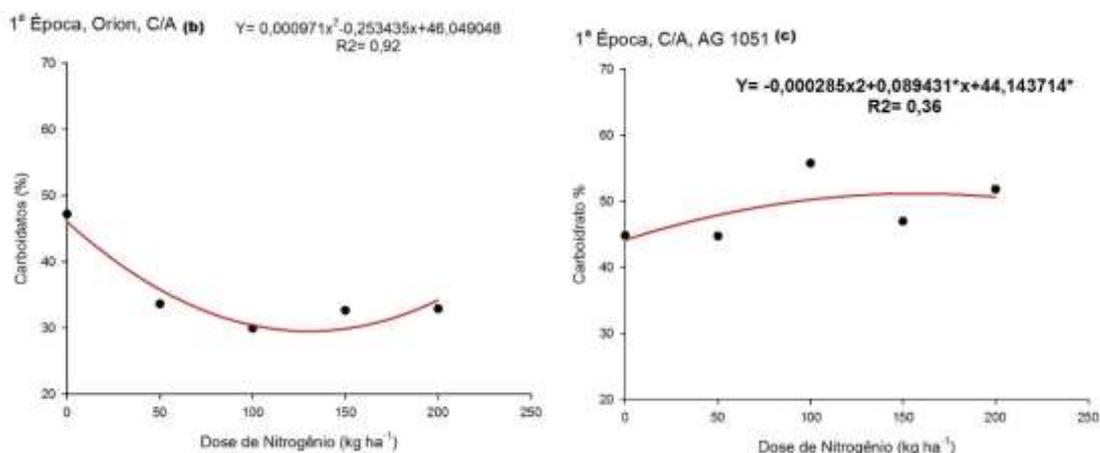
Figura 3: Teor de proteína (%) em genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada entre épocas diferentes e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015. \*significativo a 5% de probabilidade pelo teste t, <sup>1</sup>Maxima Eficiência Técnica



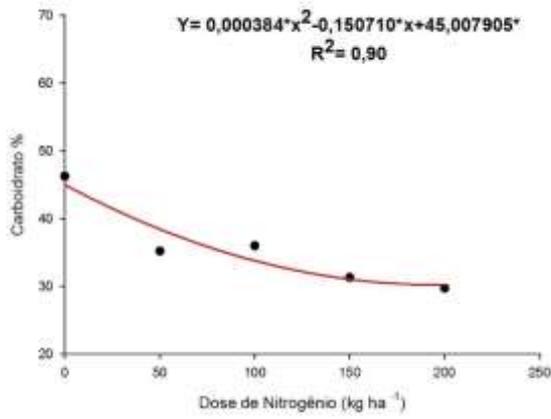
Para os genótipos AG 1051, nos sistemas de manejo C/A e S/A, e na 1ª e 2ª épocas, Al Band. no sistema de manejo S/A e na 2ª época, o modelo quadrático foi o mais adequado, onde as doses de N utilizadas no presente estudo não foram suficientes para que as mesmas alcançassem o máximo teor de carboidrato (Figura 4). Neste caso, como não foi obtido o máximo teor de carboidrato, há a necessidade de que sejam realizados estudos com outras doses de nitrogênio.

Já 1ª época (S/A) Orion, nos apresentou um modelo linear de resposta (figura 4).

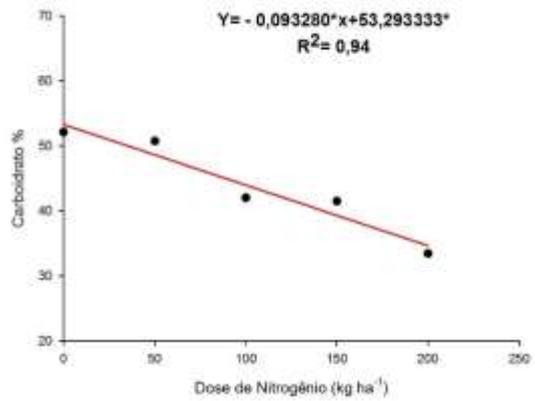
Figura 4: Média de Carboidrato (%) em genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada e processo com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas-TO, entressafra 2015. \*significativo a 5% de probabilidade pelo teste



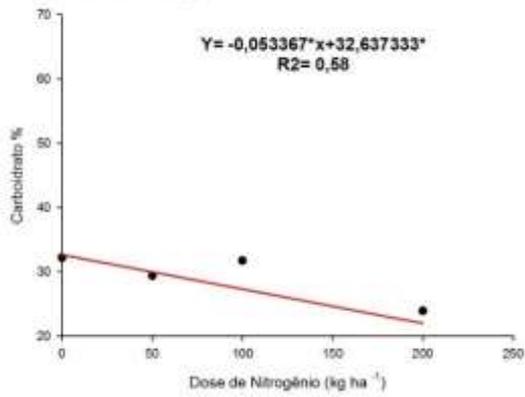
1ª Época, S/A, Al Band (d)



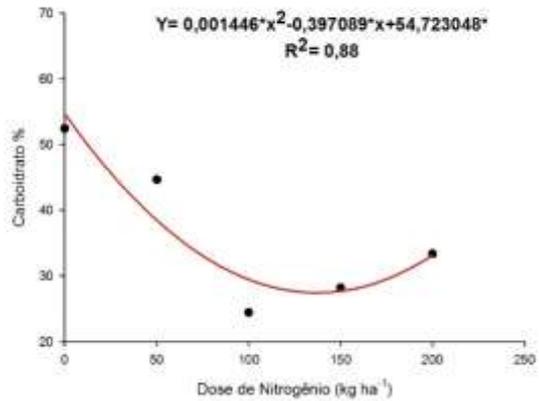
1ª Época, S/A, AG 1051 (f)



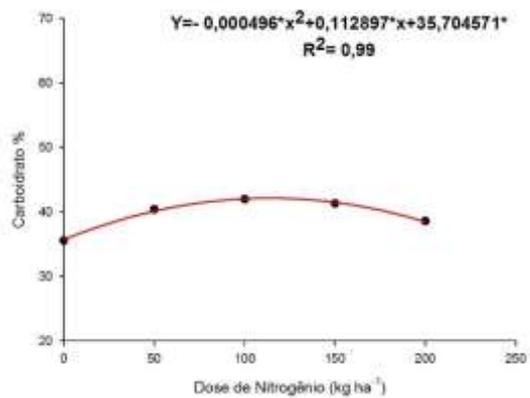
1ª Época, S/A, Orion (e)



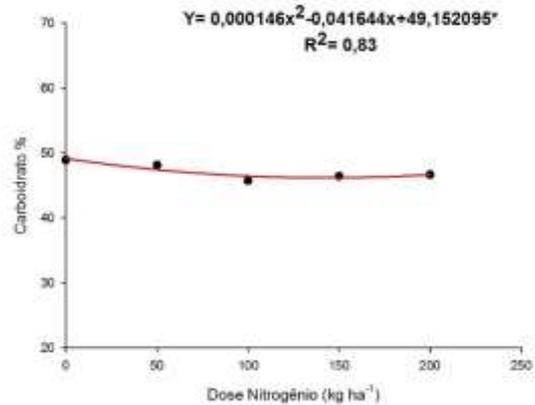
2ª Época, C/A, Orion (a)

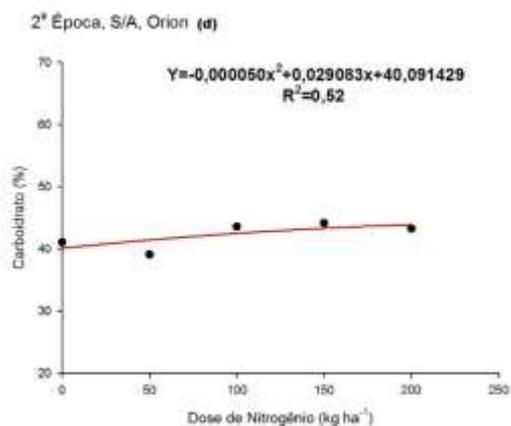


2ª Época, C/A, AG 1051 (b)



2ª Época, S/A, Al Band. (c)





O nitrogênio é considerado um nutriente essencial para a planta, além de participar direta ou indiretamente de vários processos bioquímicos e da energia necessária à produção de carboidratos e esqueletos carbônicos, o que se reflete diretamente no desenvolvimento e rendimento da planta (CONTARDIO; 2014).

O nitrogênio é muito demandado pela cultura do milho, uma vez que é constituinte de aminoácidos, proteínas, clorofila, sua maior disponibilização para a cultura pode promover incrementos no acúmulo de carboidratos pela planta (KERBAUY, 2012).

O uso de novas tecnologias e cultivares de milho com alto teor de carboidrato (%) no grão são desejáveis às usinas de etanol.

Falta de nitrogênio e clorofila significa que a planta não irá utilizar a luz do sol como fonte de energia para funções essenciais como a absorção de nutrientes e a produção de carboidratos para o desenvolvimento (LIMA et al., 2001).

Kelling & Fixen (1992) relataram que as sínteses de proteína e de amido nos cereais competem por fotoassimilados durante o período de enchimento de grãos e quando a necessidade de N para o rendimento é satisfeita, o N é usado para aumentar a concentração de proteína.

Mollo (2009) sugere que parece ser necessário haver diferentes temperaturas dia/noite para ocorrer melhor crescimento e desenvolvimento do milho e que sob altas temperaturas haveria aumento da respiração e redução da absorção de CO<sub>2</sub>, resultando na diminuição da produção de carboidratos, inibindo o crescimento.

O híbrido AG 1051, apresentou um maior incremento no teor de carboidrato nos grãos nos manejos C/A e S/A e sobre as doses de N. Por ser um híbrido ele é indicado

para cultivo em condições de alto nível tecnológico, respondendo sobremaneira á melhoria do ambiente.

Demonstrando que a importância da introdução dessa cultura já utilizada energeticamente em outros países poderá ofertar uma ampla resiliência no que tange aos estoques do combustível nas entressafras, minimizando as variações de preço do produto, assim como, gerar estabilidade no mercado de etanol.

## 6. CONCLUSÃO

A inoculação com *Azospirillum brasilense* promoveu um aumento no teor de proteína e nos grãos, nas duas épocas e em todas cultivares, já o teor de carboidrato apresenta melhor desempenho no manejo sem a inoculação.

O híbrido AG 1051 apresenta um maior incremento no teor de proteína e carboidrato nos grãos e função de doses de N, nos manejos S/A e C/A.

A utilização do *Azospirillum brasilense*, associada ou não à adubação nitrogenada, promove um aumento no teor de proteína nos grãos de milho, e nas menores doses de N, com ou sem a inoculação promove um aumento significativo no teor de carboidrato nos grãos de milho.

Na primeira época, no manejo com e sem inoculação e sobre as doses de N, todas as cultivares apresenta um aumento significativo no teor de proteína e teor de carboidrato nos grãos de milho.

## **BIBLIOGRAFIA**

**ABREU V.M; Seleção Indireta para Tolerância a Seca em Milho por Meio de Características Agronômicas e de Sementes; Lavras -MG; UFLA; 2013**

**AGUIAR G.; Carta Gestor: Domando a Última Fronteira Agrícola do Brasil; Maio 2013; Site: <https://www.scotconsultoria.com.br/imprimir/noticias/30423> Acesso em [05/04/2017](#)**

**AHMADI, M.; WIEBOLD, W.J.; BEUERLEIN, J.E.; KEPHART, K.D. Protein Quality of Corn Hybrids Differing for Endosperm Characteristics and the Effect of Nitrogen Fertilization. Journal of Plant Nutrition, v.18, p.1471-1481, 1995.**

**ALVES, J.S.; PIRES, A.J.V.; MATSUMOTO, S.N. et al. Características Morfológicas E Estruturais Da Brachiaria Decumbens Stapf. Submetidas A Diferentes Doses De Nitrogênio E Volumes De Água. Acta Veterinaria Brasilica, v.2, n.1, p.1-10, 2008.**

**AMADO, T.J.C; MIELNICZUK, J. e VEZZANI, F.M.; Nova recomendação de adubação nitrogenada para o milho sob plantio direto no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo. Revista Plantio Direto, Passo Fundo, n 68, p 30-35, 2002.**

**AMARAL FILHO, J. P. R., FORNASIERI FILHO, D., FARINELLI, R., & BARBOSA, J. C. Espaçamento, Densidade Populacional E Adubação Nitrogenada Na Cultura Do Milho. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 29.3, p.467-473, 2005.**

ANDRADE, A.C.; FONSECA, D.M.; GOMIDE, J.A. et al.; **Produtividade E Valor Nutritivo Do Capim-Elefante Cv. Napier Sob Doses Crescentes De Nitrogênio E Potássio.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.29, n.6, p.1589-1595, 2000.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Vitamins And Other Nutrients.** Cap. 45, p. 58-61. In AOAC. Official methods of analysis. 16. ed. Arlington: AOAC International, 1995.

AVIVI Y. e FELDMAN N.; **The Response Of Wheat To Bactéria Of The Genus Azospirillum.** Israel Journal Of Botany Basic, Jerusalem, v. 32, 237-241, 1982.

BÁRBARO I.M; BRANCALIÃO S.B.;TICELLI M.;**É Possível A Fixação Biológica De Nitrogênio No Milho?;** Pesquisa & Tecnologia, vol. 5, n. 1 Jan-Jun 2008

BÁRBARO, I.M.; BRANCALIÃO, S.R.; TICELLI, M. **Muito Conhecida Na Soja, A Fixação Biológica Do Nitrogênio É Possível Também No Milho.** Revista Attalea Agronegócios, n.15, 2007.

BARROS J.F.C & CALADO J.G.; **A Cultura Do Milho;** Universidade de Évora; 2014

BARTCHECHEN et al; **Efeito Da Inoculação De Azospirillum Brasiliense Na Produtividade Da Cultura Do Milho (Zea Mays L);** Campo Digit@l, v.5, n.1, p.56-59, Campo Mourão, dez., 2010.

BASHAN, Y. HOGUIN, G. **Azospirillum-Plant Relationship: Environmental And Physiological Advances (1990-1996)**. Can. Journal Microbiology, v.43, p.103-121, 1997.

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

BASI S.; **Associação De Azospirillum Brasilense E De Nitrogênio Em Cobertura Na Cultura De Milho**; Dissertação (mestrado), Área De Concentração Em Produção Vegetal; Guarapuava, 2013;

BELYEA, R.L.; RAUSCH, K.D.; TUMBLESÓN, M.E. **Composition Of Corn And Distillers Dried Grains With Solubles From Dry Grind Ethanol Processing**. Bioresource Technology. v. 94,p. 293–298, 2004

BERGAMASCHI H et al; **Distribuição Hídrica No Período Crítico Do Milho E Produção De Grãos**; Pesq. agropec. bras., Brasília, v.39, n.9, p.831-839, set. 2004

BERGAMASCHI H.; **Necessidades E Sensibilidade Da Cultura Do Milho Às Condições Hídricas E Térmicas**; Pesq. CNPQ; 2014

BERGONCI, J.I.; BERGAMASCHI, H. **Ecofisiologia Do Milho**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 24., 2002, Florianópolis. Anais. Florianópolis: Embrapa Milho e Sorgo; Epagri, 2002.

BISSANI, C.A.; CAMARGO, F.A.O.; GAINELLO, C.; TEDESCO, M.J. **Fertilidade Dos Solos E Manejo Da Adubação De Culturas**. 2ed. Porto Alegre: Gráfica Metrópole, 2008. 344 p.

BODDEY, R.M., BALDANI, V.L.D., BALDANI, J.I. e DÖBEREINER, J. **Effect Of Inoculation Of Azospirillum spp On The Nitrogen Assimilation Of Field Grown Wheat**. *Plant And Soil*, v.95:109-121. 1986.

BORTOLINI, C. G.; SILVA, P. R. F.; ARGENTA, G.; FORSTHOFER, E. L. **Sistemas De Aplicação De Nitrogênio E Seus Efeitos Sobre O Acúmulo De N Na Planta De Milho**. Seção IV – Fertilidade do Solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.26, p.361-366, 2002.

BOTHAST, R.J.; SCHLICHER, M.A. **Biotechnological Processes For Conversion Of Corn Into Ethanol**. *Appl Microbiol Biotechnol*. v.67, p. 19-25. 2005.

BOUTON J.H, ALBRECHT S.L. e ZUBERER D. A; **Screening And Selection Of Pearl Millet For Root Associated Bacterial Nitrogen Fixation**. *Field Crop Research*, Amsterdam, V. 11, p 131-139, 1985

BRAY, E. A. **Plant Responses To Water Deficit**. *Trends In Plant Science*. 2:48-54. 1997

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. **Regulação Da Absorção E Assimilação Do Nitrogênio Nas Plantas**. Ciência Rural, v.30, n.2, p.365-372, 2000.

BRITO et al; **Crescimento, Fisiologia E Produção Do Milho Doce Sob Estresse Hídrico**; Biosci. J., Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1244-1254, Sept./Oct. 2013

BRITO. C. **Uso Do DDGS, Um Subproduto Na Produção Do Etanol, Na Alimentação De Monogástricos**. Fevereiro /2008.

BRUNETON, J. **Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants**. 2<sup>a</sup> ed. Andover, Intercept, 1999. 1119p.

BÜLL, L. T. **Nutrição Mineral Do Milho**. In: Bull, L. T.; Cantarella, H. (ed). Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: Potafos, 1993. p.63-131.

CABEZAS et al; **Balanço Da Adubação Nitrogenada Sólida E Fluida De Cobertura Na Cultura Do Milho Em Sistema Plantio Direto No Triângulo Mineiro**. R Bras Ci Solo. 2000; 14:363-76.

CANIATO et al; **Composição De Açúcares Solúveis Totais, Açúcares Redutores E Amido Nos Grãos Verdes De Cultivares De Milho Na Colheita**; Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.3, n.1, p.38-44;, 2004

CAPOBIANGO M.; **Extração Das Proteínas Do Fubá De Milho E Obtenção De Hidrolisados Protéicos Com Baixo Teor De Fenilalanina**; Dissertação no programa de mestrado Ciência de Alimentos na UFMG; 2006

CARGNIN et al; **Tolerância Ao Estresse Térmico Em Genótipos De Trigo**; Pesq. agropec. bras., Brasília, v.41, n.8, p.1269-1276, ago. 2006

CARNICELLI, J.H.; PEREIRA, P.R.G.; FONTES, P.C.R.; CAMARGO, M.I. **Índices De Nitrogênio Na Planta Relacionados Com A Produção Comercial De Cenoura**. Horticultura Brasileira, Brasília, v. 18, p. 808-810, p. 8, 2000. Suplemento.

CARVALHO, D.C.O., ALBINO, L.F.T., ROSTAGNO, H.S., OLIVEIRA, J.E., VARGAS JÚNIOR, J.G., TOLEDO, R.S., COSTA, C.H.R., PINHEIRO, S.R.F., SOUZA, R.M. **Composição Química E Energética De Amostras De Milho Submetidas A Diferentes Temperaturas De Secagem E Períodos De Armazenamento**. Revista Brasileira de Zootecnia. v. 33, n.2, p.358-364, Mar./Apr. 2004

CASSÁN, F. SGROY, V. PERRIG, D. MASCIARELLI, O. LUNA, V. **Producción De Fitohormonas Por Azospirillum Sp Aspectos Fisiológicos Y Tecnológicos De La Promoción Del Crecimiento Vegetal**. In: Cassán F. S., Garcia de Salamone I (eds) Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, p. 59–84. 2008

CASTRO et al; **Rendimento Industrial E Composição Química De Milho De Alta Qualidade Protéica Em Relação A Híbridos Comerciais**; Pesq. Agropec. Trop., Goiânia, v. 39, n. 3, p. 233-242, jul./set. 2009

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; SESTARI, I. **Manual De Fisiologia Vegetal: Fisiologia De Cultivos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2008. 864 p.

CAZETTA et al.; **Qualidade Industrial De Cultivares De Trigo E Triticale Submetidos À Adubação Nitrogenada No Sistema De Plantio Direto**. Bragantia. 2008; 67:741-50.

CECATO, U.; PEREIRA, L.A.F.; JOBIM, C.C. et al. **Influência Das Adubações Nitrogenada E Fosfatada Sobre A Composição Químico-bromatológica Do Capim Marandu (Brachiaria Brizantha (Hochst) Stapf Cv. Marandu)**. Acta Scientiarum. Animal Sciences, v.26, n.3, p.409-416, 2004.

CHAGAS, L.A.C.; BOTELHO, S.M.S. **Teor De Proteína Bruta E Produção De Massa Seca Do Capim-Braquiária Sob Doses De Nitrogênio**. Bioscience Journal, v.21, n.1, p.35-40, 2005.

COELHO A.M.&FRANÇA G.E; **Nutrição E Adubação Do Milho**; Pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo; 2005

COHEN, A. C., BOTTINI, R., PONTIN, M., BERLI, F.J., MORENO, D., BOCCANLANDRO, H., TRAVAGLIA, C. N., PICCOLI P. N. ***Azospirillum Brasilense* Ameliorates The Response Of *Arabidopsis Thaliana* To Drought Mainly Via Enhancement Of ABA Levels**. Physiologia Plantarum 153: p.79–90. 2015

COLLING et al; **Eficiência Agronômica Da Utilização De Azospirillum Na Cultura Do Trigo**; XVII seminário interinstitucional de Ensino, Pesquisa e extensão; Novembro de 2012

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento Superintendência: Regional de Mato. **Processo (Simplificado) De Produção De ETANOL De MILHO**. 8 f, 2012.

CONTARDI. L.M; **Manejo E Modo De Aplicação De Azospirillum Brasilense Em Milho**; Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação de agronomia; Chapadão do Sul-MS, 2014

CORREA, O.S. ROMERO, A. M. SORIA, M. A. DE ESTRADA, M. **Azospirillum Brasilense-Plant Genotype Interactions Modify Tomato Response To Bacterial Diseases, And Root And Foliar Microbial Communities**. In: Cassán FD, Garcia de Salamone I (eds) *Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina*. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, p. 85–94, 2008

CREECH, R. G. **Carbohydrate Synthesis In Maize**. *Advances in Agronomy*, San Diego, v. 20, p. 275- 289, 1968

CRUZ, J. C.; MELHORANÇA, A. L.; COELHO, A. M. et al. **Cultivo Do Milho**, 2010. Disponível em: [http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho\\_6\\_ed/manejomilho.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/manejomilho.htm). Acessado em: 20/03/2017

D`ARCE, SPOTO & CASTELLUCCI; **Processamento E Industrialização Do Milho Para Alimentação Humana**; *Visão Agrícola* N°13 Jul | Dez 2015

DARTORA et al; **Adubação Nitrogenada Associada À Inoculação Com *Azospirillum Brasilense* E *Herbaspirillum Seropedicae* Na Cultura Do Milho**; R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, v.17, n.10, p.1023–1029, 2013.

DARTORA.J.; **Desempenho Agronômico Do Milho Em Resposta À Inoculação Combinada Com *Azospirillum Brasilense* E *Herbaspirillum Seropedicae* Associada À Adubação Nitrogenada**; Dissertação apresentado ao programa de pós-graduação de agronomia, Marechal Cândido Rondon; 2012

DIDONET A.D. e VITORIA T.B; **Resposta Do Feijoeiro Comum Ao Estresse Térmico Aplicado Em Diferentes Estágios Fenológicos**. Pesquisa Agropecuária Tropical, 36 (3): 199-204, 2006

DIDONET et al, O. **Realocação De Nitrogênio E De Biomassa Para Os Grãos, Em Trigo Submetido A Inoculação De *Azospirillum***. Revista Pesquisa agropecuária brasileira, v.35, n. 2,p.401-411, 2000.

DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O; KENNER, M.H. **Acúmulo De Nitrogênio E De Massa Seca Em Plantas De Trigo Inoculadas Com *Azospirillum Brasiliense***. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.16, n.9, p.645-651, 1996.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. **Plant Growth-Promoting Effects Of Diazotrophs In The Rhizosphere**. Critical Reviews in Plant Sciences, Amsterdam, v. 22, n. 2, p. 107-149, 2003.

DUARTE AP, PIEDADE RC, MARTINS VC, CANTARELLA H, BARROS VLNP.  
**Resposta De Cultivares De Milho Ao Nitrogênio Em Cobertura E À Inoculação Com Azospirillum.** In: Anais do 29º Congresso Nacional de Milho e Sorgo; 2012; Águas de Lindóia. Campinas: Instituto Agronômico; 2012. p.1786-92.

DUARTE et al; **Análise Das Variáveis Dos Custos De Produção Do Milho No Período Da Safra;** VII SEGeT – Simpósio de Excelência em Gestão e Tecnologia – 2010

DURÃES, F.O.M. **Limitações Fisiológicas Do Milho Nas Condições De Plantio Nas Regiões Tropicais Baixas,**2006. Artigo em Hypertext.

ECKERT, C.T; **Avaliação Da Produção De Etanol A Partir De Distintos Híbridos De Milho Na Região Oeste Do Paraná;** Cascavel, 2016.74 p.

EIA. US Energy Information Administration. Independent Statistics and Analysis.  
**Corn Ethanol Yields Continue To Improve.** May 2015

EMBRAPA **Sorgo e Milho** - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. 2002.

FANCELLI, A.L. **Nutrição E Adubação Do Milho.** In: Curso de atualização em manejo racional do solo e nutrição de plantas. Módulo III. 11ª aula. 18p. 2001.

FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D. **Produção De Milho.** Guaíba: Agropecuária, 2004. 360p.

FERNANDES, F. C. S.; LIBARDI, P. L. **Percentagem De Recuperação De Nitrogênio Pelo Milho, Para Diferentes Doses E Parcelamentos Do Fertilizante Nitrogenado.** Revista Brasileira de Milho e Sorgo, Sete Lagoas, v.6, n. 3, p. 285-296, 2007.

FERRAZ E.C.; **Fisiologia do Milho.** In: INSTITUTO BRASILEIRO DA POTASSA. Cultura e adubação do milho. São Paulo, 1966. P.369-379.

FERREIRA et al; **Características Agronômicas E Nutricionais Do Milho Adubado Com Nitrogênio, Molibdênio E Zinco;** *Scientia Agricola*, v.58, n.1, p.131-138, jan./mar. 2001

FERREIRA, D. F. **Sisvar: A Computer Statistical Analysis System.** Ciência e Agrotecnologia, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FLOSS, E. L. **Fisiologia Das Plantas Cultivadas: O Estudo Do Que Está Por Trás Do Que Se Vê.** Passo Fundo: UPF, 2011.

FLOSS, E.L. **Fisiologia Das Plantas Cultivadas: O Estudo Do Que Está Por Trás Do Que Se Vê.** Passo Fundo: UPF, 2011.

GALVÃO, BOREM E PIMENTEL; **Milho: Do Plantio Á Colheita;** isbn: 978-85-7269-514-5 351p; il; 22 cm; Viçosa, MG; ed. UFV; 2015,

GARCIA et al; **Biological Nitrogen Fixation In Azospirillum Strain-Maize Genotype Associations As Evaluated By N Isotope Dilution Technique.** Biology and Fertility of Soils, Berlin, v 23, p. 249-256, 1996

GOMES F.P. **Curso De Estatística Experimental.** 15.ed. Piracicaba: FEALQ, 2009. 451p.

GOMES, R.F.; SILVA, A.G.; ASSIS, R.L.; PIRES, F.R. **Efeitos De Doses E Época De Aplicação De Nitrogênio Nos Caracteres Agronômicos Da Cultura Do Milho Sob Plantio Direto.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.31, p. 931-938, 2007.

GONÇALVES et al; **Influência Da Temperatura No Acúmulo De Proteínas Em Sementes De Soja;** Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 1038-1040, jul. 2007

GUIMARÃES P.S; **Desempenho De Híbridos Simples De Milho (Zea Mays L.) E Correlação Entre Heterose E Divergência Genética Entre As Linhagens Parentais;** Dissertação; Pós-Graduação em agricultura tropical e subtropical; Campinas; 2007

HOEFT, R. G. **Desafios Para A Obtenção De Altas Produtividades De Milho E De Soja Nos EUA.** Piracicaba, p. 1-4, 2003 (Informações Agronômicas, 104).

HOSSAIN, A.; SARKER, M.A.Z.; SAIFUZZAMAN, M. et al. **Evaluation Of Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Under Heat Stress: Yield And Heat Susceptibility Index.** Journal of Stress Physiology & Biochemistry, v.8, n.1, p.77-94, 2012.

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 FD, GarciadeSalamone I (eds) *Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina.* Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, p. 17–36, 2008

HUNGRIA M., et al. **Inoculação Com Azospirillum Brasiliense: Inovação Em Rendimento A Baixo Custo.** – Londrina: Embrapa Soja, 36p, 2011.

INIGUEZ, A.L.; DONG, Y.; TRIPLETT, E.W. **Nitrogen Fixation In Wheat Provided By Klebsiellapneumoniae 342.** *Molec. Plant Microbiology*, v.17, p.1078-1085. 2004.

JAKELAITIS, A.; SILVA, A.A.; FERREIRA, L.R. **Efeitos Do Nitrogênio Sobre O Milho Cultivado Em Consórcio Com Brachiaria Brizantha.** *Acta Scientiarum Agronomy*, v.27, n.1, p.39-46, 2005.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; DAL BEM, E. A.; PORTUGAL, J. R.; VILELA, R. G. **Inoculação De Sementes Com Bactéria Diazotrófica E Aplicação De Nitrogênio Em Cobertura E Foliar Em Milho.** *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 34, n. 2, p. 527-538, 2013.

KRISHNAN, M.S., TAYLOR, F., DAVISON, B.H., NGHIEM, N.P. **Economic Analysis Of Fuel Ethanol Production From Corn Starch Using Fluidized-Bed Bioreactors.** *Bioresource Technology*.v.75, p.99–105,2000.

LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. **Nitrogen Use Efficiency**. 1. Uptake of from the soil. *Annals Of Applied Biology*, v.149, p.243-247, 2006.

LECHINOSKI ET AL; **Influência Do Estresse Hídrico Nos Teores De Proteínas E Aminoácidos Solúveis Totais Em Folhas De Teca (Tectona Grandis L. F.)**; *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 927-929, jul. 2007

LEHNINGER, A.L. **Princípios De Bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1995.

LEMOS, J.M. **Resposta De Cultivares De Trigo À Inoculação Em Sementes Com Azospirillum Brasilense, E A Adubação Nitrogenada Em Cobertura**. 63p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2011.

MACHADO L.O.; **Adubação Nitrogenada**; Apostila Monitor UFU; 2010

MAGALHÃES et al; **Fisiologia do Milho**; Circular Técnica 22 da Embrapa, ISSN 1679-1150; Sete Lagoas, MG Dezembro, 2002

MAGALHAES P.; **Fisiologia do Milho**; Circular Técnica 22 Embrapa; ISSN 1679-1150; Sete Lagoas, MG Dezembro, 2002

MAGALHÃES, SOUZA e ALBURQUERQUE; **Efeitos Do Estresse Hídrico Na Produção De Grãos E Na Fisiologia Da Planta De Milho**; 37 p. : il. – (Boletim de

Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 51); Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012.

MAIA et al; **Conteúdo Relativo De Água, Teor De Prolina E Carboidratos Solúveis Totais Em Folhas De Duas Cultivares De Milho Submetidas A Estresse Hídrico;** Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 918-920, jul. 2007.

MALAVOLTA, E. **Elementos De Nutrição De Plantas.** Piracicaba: Ceres, 1980. 251p

MALDANER et al; **Exigência Agroclimática Da Cultura Do Milho (Zea Mays);** Revista Brasileira de Energias Renováveis, v. 3, p. 13-23, 2014

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia De Sementes De Plantas Cultivadas.** Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition Of Higher Plant.** 2.ed. New York: Academic Press, 1995. 889p.

MASCARELLO G. e ZANÃO JÚNIOR L.A.; **Produtividade De Milho Em Resposta A Doses De Nitrogênio E Inoculação Das Sementes Com *Azospirillum Brasilense*;** Ver Cultivando Ver. Cultivar e saber ISSN 2175-2214 Edição Especial, p. 46 – 55. 2015

MAXWELL, C.; DAVISON, M. **Using Real Option Analysis To Quantify Ethanol Policy Impact On The Firm's Entry Into And Optimal Operation Of Corn Ethanol Facilities.** Energy Economics. v.42,p.140-151,2014.

MAYUMI SASAKI; **Lipídios, Carboidratos E Proteínas De Sementes De Leguminosas Do Cerrado**; vii, 75p.Universidade de São Paulo; 2008

MILANEZ, A.Y., NYKO, D., VALENTE, M.S., XAVIER, C.E.O., KULAY, L.A., DONKE, C.G., MATSUURA, M.I.S.F., RAMOS, N.P., MORANDI, M.A.B., BONOMI, A., CAPITANI, D.H.D., CHAGAS, M.F., CAVALETT, O., GOUVEIA, V.R.L. **A Produção De Etanol Pela Integração Do Milho-Safrinha Às Usinas De Cana-De-Açúcar: Avaliação Ambiental, Econômica E Sugestões De Política**. Revista do BNDES, n. 41, p. 147-207, Rio de Janeiro, jun,2014.

MITTELMANN, A. **Variação genética para qualidade nutricional em milho com endosperma normal**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, SP, Universidade de São Paulo. 93p, 2001.

MMA- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE; **O Bioma Cerrado**; 2014 Disponível: <http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado> Acesso: 08/03/2017

MORRIS, M.; HILL, A. **Ethanol Opportunities And Questions**. NCAT Energy Specialists. p.1-16, 2006.

MULLER T.M; **Inoculação De Azospirillum Brasilense Associada A Níveis Crescentes De Adubação Nitrogenada E O Uso De Biostimulante Vegetal Na Cultura Do Milho**; Dissertação (mestrado); Universidade Estadual do Centro\_Oeste, Programa de Pós-Graduação em agronomia, Guarapuava; 2013

NASCIMENTO et al.; **Tolerância Ao Déficit Hídrico Em Genótipos De Feijão-Caupi**. R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, v.15, n.8, p.853–860, 2011.

NAVES et al; **Avaliação Química E Biológica Da Proteína Do Grão Em Cultivares De Milho De Alta Qualidade Protéica**; Pesquisa Agropecuária Tropical, 34 (1): 1-8, 2004

NOVAKOWISKI ET AL; **Efeito Residual Da Adubação Nitrogenada E Inoculação De *Azospirillum Brasilense* Na Cultura Do Milho**; Seminal: Ciências Agrárias, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 1687-1698, 2011

NUNES et al; **Produtividade Do Trigo Irrigado Submetido À Aplicação De Nitrogênio E À Inoculação Com *Azospirillum Brasilense***; R. Bras. Ci. Solo, 39:174-182, 2015

NUNES, R.V., POZZA, P.C., POTENÇA, A., NUNES, C.G.V., POZZA, M.S.S., LORENÇON, L., EYNG, C., NAVARINE, F.C. **Composição Química E Valores Energéticos Do Milho E Da Silagem De Grãos Úmidos De Milho Para Aves**. Rev. Bras. Saúde Prod. v.9, n.1, p. 82-90, 2008.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. **Root-Associated *Azospirillum* Species Can Stimulate Plants**. Applied and Environment Microbiology, Washington, v.6, n.7, p.366-370, 1997.

PAES M.C.D; **Aspectos Físicos, Químicos E Tecnológicos Do Grão De Milho;**  
Circular Técnica 75; ISSN 1679-1150; Sete Lagoas, MG Dezembro, 2006

PAULA, S. A. **Influência da temperatura de cultivo e doses de fósforo no solo na composição bioquímica de sementes de soja.** Tese. Viçosa, UFV, 2011.

PAULA, S.A. **Influência Da Temperatura De Cultivo E Doses De Fósforo No Solo Na Composição Bioquímica De Sementes De Soja.** Tese. Viçosa, UFV, 2011.

PERRENOUD, S. **Potassium And Plant Health.** Bern: International Potash Institute, 1977. 218p.

PIRES, L. P. M., et al. **Desempenho De Genótipos De Soja, Cultivados Na Região Centro-Sul Do Estado Do Tocantins,** safra 2009/2010. Biosci. J., Uberlândia, v. 28, n. 2, p. 214-223, Mar./Apr. 2012.

PRANDO et al;. **Formas De Uréia E Doses De Nitrogênio Em Cobertura No Desempenho Agrônômico De Genótipos De Trigo.** Semina: Ci Agrár. 2012; 33:621-32.

PRASAD, et al; **Influence Of High Temperature During Pre-And Post-Anthesis Stages Of Floral Development On Fruit-Set And Pollen Germination In Peanut.** Aust. J. Plant Physiol., 28 (3): 233-240, 2001

QUEIROZ. I.D.S; **Implicações Da Inoculação Com *Azospirillum Brasilense* E De Níveis De N Em Milho Transgênico No Cerrado**; Dissertação apresentada para o Programa de pós graduação concentração em Solos, Uberlândia MG, 2014

RAMBO, L.; SILVA, P.R.F. da; ARGENTA, G.; SANGOI, L. **Parâmetros De Planta Para Aprimorar O Manejo Da Adubação Nitrogenada De Cobertura Em Milho**. Revista Ciência Rural, Santa Maria, v.34, n.5, p.1637-1645, 2004. ISSN 0103-8478.

RAMPIM et al; **Qualidade Fisiológicas De Sementes De Três Cultivares De Trigo Submetidas À Inoculação E Diferentes Tratamentos**. R Bras. Sementes. 2012; 34:678-85.

RAO, A. C. S.; SMITH, J. L.; PARR, J. F.; PAPENDICK, R. I. **Considerations In Estimating Nitrogen Recovery Efficiency By The Difference And Isotopic Dilution Methods**. Fertilizer Research, v.33, p.209-217, 1992.

REPKE et al; **Eficiência Da *Azospirillum Brasilense* Combinada Com Doses De Nitrogênio No Desenvolvimento De Plantas De Milho**; Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.12, n.3, p. 214-226, 2013 Versão impressa ISSN 1676-689X / Versão on line ISSN 1980-6477

RIBEIRO et al; **Estresse Por Altas Temperaturas Em Trigo: Impacto No Desenvolvimento E Mecanismos De Tolerância**; R. Bras. Agrociência, Pelotas, v.18 n. 2-4, p.133-142, abr-jun, 2012.

RIBEIRO, K.G.; PEREIRA, O.G. **Valor Nutritivo Do Capim-Tifton 85 Sob Doses De Nitrogênio E Idades De Rebrotação.** R. Veterinária e Zootecnia, v.17, n.12, p.560-567, 2010.

RISTIC, Z.; BUKOVNIK, U.; PRASAD, P.V.V. **Correlation Between Heat Stability Of Thylakoid Membranes And Loss Of Chlorophyll In Winter Wheat Under Heat Stress.** Crop Science, v.47, p.2067-2073, 2007.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. **Como A Planta De Milho De Milho Se Desenvolve.** Arquivo do Agrônomo Potafos, Piracicaba, n. 103, p. 1- 20, set. 2003.

RODRIGUES, B.H.N.; LOPES, E.A.; MAGALHÃES, J.A. **Teor De Proteína Bruta Do Cynodon Spp. Cv. Tifton 85 Sob Irrigação E Adubação Nitrogenada, Em Parnaíba, Piauí.** Teresina: Embrapa, 2005. 4p. (Comunicado Técnico, 171).

RODRIGUES, L. R.; SILVA, P. R. F.; FERREIRA, P. R. et al. **Indicações Técnicas Para O Cultivo Do Milho E Do Sorgo No Rio Grande Do Sul: Safras 2011/2012 E 2012/2013.** 1.ed. Porto Alegre: Fepagro, 2011. 140 p

RODRIGUEZ H, GONZALEZ T, GOIRE I, BASHAN Y **Gluconic Acid Production And Phosphate Solubilization By The Plant Growth-Promoting Bacterium Azospirillum Spp.** Naturwissenschaften v. 91, p. 552–555, 2004

ROESCH et al; **Characterization Of Diazotrophic Bacteria Associated With Maize: Effect Of Plant Genotype, Ontogeny And Nitrogen-Supply**. World Journal of Microbiology and Biotechnology, Dordrecht, v.22, p. 967-974, 2006.

SAIKIA, S.P.; JAIN, V. **Biological Nitrogen Fixation With Non-Legumes: An Achievable Target Or A Dogma? Current Science**. Bangalore. v.92, n.3, p.317-322, 2007.

SALANTUR, A.; OZTURK, R.; AKTEN, S. **Growth And Yield Response Of Spring Wheat (*Triticum Aestivum* L.) To Inoculation With Rhizobacteria**. Plant, Soil and Environment, Praga, v. 52, n. 6, p. 111-118, 2006

SALA VMR, CARDOSO EJBN, FREITAS JG, SILVEIRA APD. **Resposta De Genótipos De Trigo À Inoculação De Bactérias Diazotróficas Em Condições De Campo**. Pesq Agropec Bras. 2007; 42:833-42.

SANGOI et al; **Desempenho Agronômico Do Milho Em Razão Do Tratamento De Sementes Com *Azospirillum* Sp. E Da Aplicação De Doses De Nitrogênio Mineral**; R. Bras. Ci. Solo, 39:1141-1150, 2015

SANTOS, A. J. G.; MONTENEGRO, F. T.; ALMEIDA, L. S. et al. **Avaliação Do Sistema De Produção Agrícola Da Agricultura Familiar Na Paraíba**. In: CONGRESSO CEARENSE DE AGROECOLOGIA, 2., 2010, Cariri. Anais... Cariri, CE: UFC, 2010.

SAWAZAKI & PATERNIANI; **Evolução Dos Cultivares De Milho No Brasil**; In: Galvão; Miranda; **Tecnologias de Produção do Milho**; 20 ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, v.1, p. 13-53, 2004

SEPLAN. Secretaria do Planejamento e Meio Ambiente do Tocantins. **Atlas Do Tocantins: Subsídios Ao Planejamento Da Gestão Territorial**. 3. ed. Palmas: SEPLAN, 2003, 49p.

SHAO, H.; CHU, L.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C. **Water-Deficit Stress Induced Anatomical Changes In Higher Plants**. *Comptes Rendus Biologies, Paris*, v. 331, p. 215-225, 2008.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M.; DE VOR, R.E. **Solvent Extraction Of Zein From Dry-Milled Corn**. *Cereal Chem.*, v. 77, p. 724-730, 2000.

SILVA, A. C. T. F., LEITE I. C. & BRAZ L. T; **Avaliação Da Viabilidade Do Pólen Como Possível Indicativo De Tolerância A Altas Temperaturas Em Genótipos De Tomateiro**. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.*, 12 (2): 156-165. 2000

SOUZA et al; **Composição Química E Desoxinivalenol Em Trigo Da Região Centro-Sul Do Paraná: Adubação Nitrogenada Em Cobertura Associada Com Azospirillum Brasilense**; *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 35, n. 1, p. 327-342, jan./fev. 2014

SOUZA G.M e BORBOSA A.M; **Fatores De Estresse No Milho São Diversos E Exigem Monitoramento Constante**; *visão agrícola* nº13 jul | dez 2015

SOUZA SOBRINHO, F. **Divergência Genética De Híbridos Simples E Alternativa Para A Obtenção De Híbridos Duplos De Milho**. 2001. 96f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Tradução de SANTARÉM, E.R. et al., 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TOLLER et al; **Adubação Potássica E Época De Semeadura Em Soja: Eficiência E Comportamento De Cultivares Visando A Produção De Etanol**; Dissertação; Universidade Federal do Tocantins- UFT; 2016

TSAI, C. Y.; SALAMINI, F.; NELSON, O. E. **Enzymes Of Carbohydrate Metabolism In Developing Endosperm Of Maize**. Plant Physiology, Bethesda, v. 46, p. 299-336, 1970.

UBERT E SOLIGO; **Associação De Azospirillum Brasilense A Doses De Nitrogênio Na Cultura Do Sorgo Silageiro**; Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.21; p. 2015

USDA. United States Department of Agriculture. **The Energy Balance Of Corn Ethanol: An Update**. 2002.

VIANA et al; **Adubação Nitrogenada Na Produção E Composição Química Do Capim Braquiária Sob Pastejo Rotacionado**; R. Bras. Zootec., v.40, n.7, p.1497-1503, 2011

VIEIRA, F. C. F.; et al. Aspectos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de soja submetidos a déficit hídrico induzido por PEG 6000. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 2, p. 543-552, 2013.

VIEIRA, F.C.F. et al. **Aspectos Fisiológicos E Bioquímicos De Cultivares De Soja Submetidos A Déficit Hídrico Induzido Por PEG 6000**. Biosci. J., Uberlândia, v. 29, n. 2, p. 543-552, 2013

VILLEGAS, E.; ORTEGA, BAUER, R. **Métodos Químicos Usados En El CIMMYT Para Determinar La Calidad De Proteína De Los Cereales**. Ciudad de México: Centro Internacional de Mejoramiento de Mayz y Trigo, 1985. 34p.

VILLEGAS, E.; ORTEGA, E.; BAUER, R. **Métodos Químicos Usados En El CIMMYT Para Determinar La Calidad De Proteína De Los Cereales**. Cidade do México, DF: Centro Internacional de Mejoramiento de Mays y trigo, 1985.

WALTER.L.C, ROSA.H.T, STRECK.N.A; **Mecanismos De Aclimação Das Plantas À Elevada Concentração De CO<sub>2</sub>**; Ciência Rural, Santa Maria, v.45, n.9, p.1564-1571, set, 2015, ISSN 0103-8478

WOLSCHICK et al; **Adubação Nitrogenada Na Cultura Do Milho No Sistema Plantio Direto Em Ano Com Precipitação Pluvial Normal E Com “El Niño”**; R. Bras. Ci. Solo, 27:461-468, 2003

YAMADA, T. **Adubação Nitrogenada Do Milho. Quanto, Como E Quando Aplicar?** Informações Agronômicas, Piracicaba: Potafos, n.74, p.1-5, 1996.

ZAIED, K.A.; EL-HADY, A.H.; AFIFY, A.H.; NASSEF, M.A. **Yield And Nitrogen Assimilation Of Winter Wheat Inoculated With New Recombinant Inoculants Of Rhizobacteria.** Pakistan. Journal of Biological Sciences, v.4, p.344-358. 2003.

ZUFFO et al.; **Morphoagronomic And Productive Traits Of RR Soybean Due To Nodulation Via Azospirillum Brasilense Groove**; Afr. J. Microbiol. Res; 2015

ZUFFO, A; **Aplicações De Azospirillum Brasilense Na Cultura Da Soja**; Tese (doutorado) –Universidade Federal de Lavras (UFLA); Lavras, 2016. 101 p.: il.