



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM AGROENERGIA
CAMPUS DE PALMAS

**EFEITO DO *Azospirillum brasilense* E NITROGÊNIO NO TEOR E NO
RENDIMENTO DE ÓLEO NOS GRÃOS DE MILHO, EM CULTIVO DE
ENTRESSAFRA, VISANDO A PRODUÇÃO DE BODIESEL**

VANDERLAN CARNEIRO DIAS

PALMAS – TO

2016

VANDERLAN CARNEIRO DIAS
engenheiro agrônomo

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agroenergia da Universidade Federal do Tocantins, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Agroenergia.

Prof. Dr. JOÊNES MUCCI PELUZIO
Orientador

PALMAS – TO
2016

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

- D541e Dias, Vanderlan Carneiro.
 Efeito do azospirillum brasileiro e nitrogênio no teor e no rendimento de óleo nos grãos de milho, em cultivo de entressafra, visando a produção de biodiesel. / Vanderlan Carneiro Dias. – Palmas, TO, 2016.
 48 f.
- Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Agroenergia, 2016.
 Orientador: Joênes Mucci Peluzio
1. Zea mays L.. 2. Inoculação. 3. Fixação biológica. 4. Adubação nitrogenada. 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).

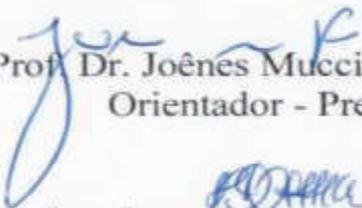
VANDERLAN CARNEIRO DIAS

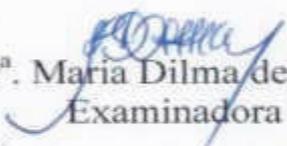
EFEITO DO *Azospirillum brasilense* E NITROGÊNIO NO TEOR E NO RENDIMENTO DE ÓLEO NOS GRÃOS DE MILHO, EM CULTIVO DE ENTRESSAFRA, VISANDO A PRODUÇÃO DE BODIESEL

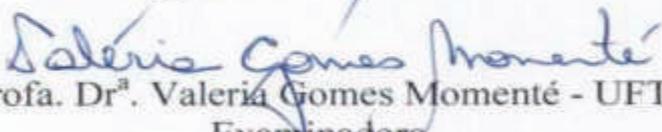
Dissertação de Mestrado

Aprovada em 06 de setembro de 2016.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Joênes Mucci Peluzio - UFT
Orientador - Presidente


Prof.ª Dr.ª Maria Dilma de Lima - UFT
Examinadora


Profa. Dr.ª Valéria Gomes Momenté - UFT
Examinadora

PALMAS – TO

2016

DEDICATÓRIA

Aos meus filhos Mariana e João Marcos e a minha esposa Claudia, por sempre estarem ao meu lado, me apoiando e me dando forças, e compreendendo, para que eu pudesse superar cada momento de dificuldade e continuar firme nesta tão sonhada conquista, pois estas pessoas foram a razão, para que eu pudesse prosseguir e concluir meu mestrado.

Com amor e carinho, DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Redigir os agradecimentos não é tarefa fácil pra ninguém!.

Agradeço ao Supremo Deus, por ter me guiado com sabedoria e ter colocado na minha trajetória pessoas tão importantes, que foram essenciais para a realização dessa conquista, a quem agradeço com imenso carinho.

Início agradecendo carinhosamente a minha esposa, Claudia Rodrigues Macedo Carneiro e aos meus filhos Mariana e João Marcos, por terem participado de todos os momentos e acreditado em mim e compreendido os momentos difíceis me ajudando a superar a cada etapa desta jornada. “A família é o bem mais precioso que possuímos”. Obrigado, por fazerem parte da minha vida”!

Aos meus pais, Valdemir e Alzina, pelos ensinamentos e uma educação com dignidade que me deram, sendo pra mim o suporte para vencer os desafios da vida de cabeça erguida.

Agradeço com muito carinho a minha cunhada Solange e a todos os demais parentes e amigos que oraram e torceram por mim.

Agradeço de forma muito especial ao professor meu orientador Joênes Mucci Peluzio, pelos ensinamentos, pela sabedoria e humildade para me ensinar, e pela paciência que teve comigo durante toda esta jornada de estudos.

Agradeço com carinho especial as professoras Valeria Momenté e Maria Dilma, por fazerem parte da minha banca, pois as suas boas sugestões e recomendações me ajudaram muito para melhorar a qualidade científica da minha Dissertação.

Agradeço imensamente aos meus queridos colegas e amigos, Prof. Erich, Prof^a. Inês, Evandro Reina, Frank, Antônia Clemilda, Douglas, Giani, Marise, Gerson, Breno, Alessandra e tantos outros. Sem a ajuda destes amigos, seria impossível desenvolver este projeto. Muito obrigado a todos.

Obrigado a todos os professores e servidores técnicos e estagiários do Programa de Pós Graduação em Agroenergia da UFT, campus de Palmas, que foram indispensáveis para o meu crescimento profissional e intelectual. Também sou grato aos membros da banca pelas considerações e argumentações.

Não posso deixar de agradecer aos colegas do Mestrado pelo companheirismo, ajuda nos momentos de estudos e trabalhos realizados juntos e pelos momentos de alegria durante este tempo de convívio.

EFEITO DO *Azospirillum brasilense* E NITROGÊNIO NO TEOR E NO RENDIMENTO DE ÓLEO NOS GRÃOS DE MILHO, EM CULTIVO DE ENTRESSAFRA, VISANDO A PRODUÇÃO DE BIODIESEL. Dias, Vanderlan Carneiro.

RESUMO: A fixação biológica de nitrogênio (FBN) apresenta-se como uma alternativa sustentável e viável, na produção de gramíneas, através do uso de bactérias do gênero *Azospirillum*, um microrganismo potencial promotor do crescimento das plantas. Neste sentido, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o efeito do uso da bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense*, inoculada via sementes, em associação ou não com doses de nitrogênio, na entressafra, no teor e rendimento de óleo em genótipos de milho. Os ensaios foram realizados em duas épocas de semeadura em um delineamento experimental de blocos casualizados (DBC) com 30 tratamentos e três repetições. Em cada época, os tratamentos foram dispostos em um esquema fatorial 2x3x5, representado por dois processos de inoculação das sementes (com e sem inoculação das sementes), três genótipos de milho (Orion e Al Bandeirante, variedades de polinização aberta, e o Híbrido Duplo (AG-1051) e cinco doses de nitrogênio N (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹) realizadas em cobertura. Foram avaliadas o teor de óleo dos grãos (%) e o rendimento de óleo (kg ha⁻¹). Foi realizada análise de variância individual e, posteriormente, análise conjunta. O uso da bactéria *Azospirillum brasilense*, acompanhada ou não de doses de nitrogênio, promoveu aumento no teor e no rendimento de óleo nos grãos. A variedade Orion foi a que mais se destacou quando inoculada com a bactéria *Azospirillum*, sendo também a mais eficiente quando cultivada sob baixo nitrogênio. A adoção desta prática não substitui o uso de fertilizantes nitrogenados, mas poderá ser uma alternativa para reduzir os custos do produtor.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; inoculação; fixação biológica; adubação nitrogenada e óleo nos grãos.

EFFECT OF *Azospirillum brasilense* AND NITROGEN IN THE CONTENT AND OIL YIELD IN CORN GRAINS IN FARMING OFF SEASON, AIMED AT BIODIESEL PRODUCTION. Dias, Vanderlan Carneiro.

ABSTRACT: Biological nitrogen fixation (FBN) is presented as a viable and sustainable in the production of grasses, through the use of bacterium of the genus *Azospirillum*, microorganisms potential plant growth promoter. In this sense, the present work was to study the effect of using the diazotrophic bacterium *Azospirillum brasilense*, inoculated in seeds, in association or not with nitrogen, in the off season, the content and oil yield in corn genotypes. The tests were performed at two sowing times in a randomized complete block design (DBC) with 30 treatments and three replications. In every age, the treatments were arranged in a factorial 2x3x5, represented by two seed inoculation processes (with and without seed inoculation) Three genotypes (Orion and Al Bandeirante, open-pollinated varieties, and the Hybrid Double (AG-1051) and five doses of nitrogen N (0, 50, 100, 150 and 200 kg ha⁻¹) held in coverage. The grain oil content were evaluated (%) and oil yield (kg ha⁻¹). individual variance analysis was performed and subsequently pooled analysis. The use of bacterium *Azospirillum brasilense*, with or without nitrogen, promoted an increase in content and oil yield in grains. The variety Orion was the one that stood out when inoculated with *Azospirillum* bacterium, and is the most efficient when grown under low nitrogen. The adoption of this practice does not replace the use of nitrogen fertilizers, but can be an alternative to reduce producer costs.

Keywords: *Zea mays* L.; inoculation; fixation; Nitrogen fertilizer and oil in grains.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Médias de Precipitação (mm) de Julho a Dezembro, ocorridas durante a condução dos ensaios experimentais na entressafra 2015.

Figura 02: Médias de Temperaturas (°C) semanais de Julho a Dezembro, ocorridas durante a condução dos ensaios experimentais na entressafra 2015;

Figura 03: Média do teor de óleo (%) de genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015;

Figura 04: Média do rendimento de óleo (kg ha⁻¹) de genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada em duas épocas de semeadura, em Palmas – TO, entressafra 2015;

Figura 05: Média do rendimento de óleo (kg ha⁻¹) de genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015.

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Caracterização físico-química do solo utilizado nos ensaios da entressafra 2015;

Tabela 02: Resumo da análise de variância conjunta para teor de óleo (%) e rendimento de óleo (kg ha^{-1}), em três genótipos de milho, e processos com e sem inoculação de *Azospirillum brasilense* e associado a doses de Nitrogênio (0, 50, 100, 150, 200 kg ha^{-1}) em duas épocas de semeadura (10/07 e 01/08/2015), em Palmas – TO, entressafra 2015;

Tabela 03: Médias do teor de óleo (%) em duas épocas de semeadura, em três genótipos de milho, em processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015;

Tabela 04: Médias do teor de óleo (%) em duas épocas de semeadura, sob cinco níveis de adubação nitrogenada, em três genótipos de milho em Palmas – TO, entressafra 2015;

Tabela 05: Médias do teor de óleo (%) de três genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015;

Tabela 06: Médias do rendimento de óleo (kg ha^{-1}), em duas épocas de semeadura, em três genótipos de milho, em processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015;

Tabela 07: Médias do rendimento de óleo (kg ha^{-1}), em duas épocas de semeadura, sob cinco níveis de adubação nitrogenada, em três genótipos de milho em Palmas – TO, entressafra 2015;

Tabela 08: Médias do rendimento de óleo (kg ha^{-1}), de três genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ha	Hectare.
N	Nitrogênio.
NO₃-	Nitrato.
NH₄⁺	Amônia.
ATP	Trifosfato de Adenosina.
mL kg⁻¹	Mililitro por quilograma.
GL	Graus de liberdade.
CTC	Capacidade Troca Catiônica.
M.O	Matéria Orgânica.
C/A	Sementes inoculadas com <i>Azospirillum brasilense</i> .
S/A	Sementes sem inoculação <i>Azospirillum brasilense</i> .
Kg ha⁻¹	Quilogramas por hectare.
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.
MATOPIBA	Extensão Geográfica da Fronteira Agrícola dos Estados. MA, TO, PI e Bahia.
FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio.
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos.
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento.
DEAGRO	Departamento do Agronegócio Fiesp.
L	Litro.
CO₂	Gás carbônico.

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	v
Lista de Tabelas.....	vi
Lista de Símbolos e Abreviaturas.....	vii
Sumário.....	viii
Resumo.....	ix
Abstract.....	x
1- INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2- OBJETIVOS.....	12
2.1- Geral.....	12
2.2- Objetivos específicos.....	13
3- CAPITULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3.1- Fisiologia.....	15
3.2- Importância e Utilização.....	15
3.3- Adubação Nitrogenada.....	17
3.4- Fixação Biológica e <i>Azospirillum brasilense</i>	17
3.5- Teor de óleo nos grãos de milho.....	19
4- CAPITULO 2 EFEITO DO <i>Azospirillum brasilense</i> E NITROGÊNIO NO TEOR E NO RENDIMENTO DE ÓLEO NOS GRÃOS DE MILHO, EM CULTIVO DE ENTRESSAFRA, VISANDO A PRODUÇÃO DE BIODIESEL.....	20
4.1- INTRODUÇÃO.....	20
4.2- MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.3- RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	25
4.3.1- Teor de óleo.....	26
4.3.1.1- Comparação de médias.....	26
4.3.1.2- Regressão Polinomial.....	31
4.3.2- Rendimento de óleo.....	32
4.3.2.1- Comparação de médias.....	32
4.3.2.2- Regressão Polinomial.....	35
4.3.2.3- Regressão Polinomial.....	37
5- CONCLUSÕES.....	39
REFERÊNCIAS	40

1- INTRODUÇÃO GERAL

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais cultivados no mundo, em virtude das suas diversas formas de utilização e potencial produtivo. Além disso, tem grande importância econômica e social: econômica, pelo valor nutricional de seus grãos e por seu uso intenso, nas alimentações humana e animal e como matéria-prima para a indústria e; social, por ser um alimento de baixo custo, pela viabilidade de cultivo tanto em grande, quanto em pequena escala e por ser à base de várias cadeias agroindustriais, como a da carne, Galvão (2015). Além disso, é também usado na fabricação de cosméticos, de bebidas e dentre outros (AWIKA, 2011).

Os maiores produtores mundiais do grão são: os Estados Unidos com 345,5 milhões de toneladas, a China com 224,6 milhões de ton. e o Brasil com 81 milhões de ton., que juntos respondem por 70% da produção mundial e mais de 7% do total das terras produtivas, estimada em 851 milhões de hectares (USDA, 2016).

No Brasil, é o 2º grão mais cultivado, ocupando uma área cultivada de 15.754,7 milhões de hectares (CONAB, 2016) e produção estimada para safra 2016/2017 de 82 milhões de toneladas (USDA, 2016). Apesar da relevância da cultura do milho na economia do Brasil, a produtividade média do país não tem ultrapassado os 4.389kg ha⁻¹ (CONAB, 2016).

A cadeia produtiva do milho é uma das mais importantes do agronegócio brasileiro, onde a produção primária responde por 37% da produção nacional de grãos. A demanda crescente, tanto interna como externa, reforça o grande potencial do setor (CALDARELLI et al., 2012).

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 (DOS SANTOS, 2014).

O nitrogênio é o macronutriente mineral que exerce maior influência na produtividade de grãos e também o que mais onera o custo de produção SILVA et al. (2005). Além disso, é fundamental para o estabelecimento e duração da área foliar, na formação das espigas, na formação da fonte produtora de fotoassimilados, Rambo et al. (2007) no aumento nos teores de proteínas, no crescimento dos microorganismos e na decomposição da matéria orgânica (MALAVOLTA, 2006).

De maneira geral, recomenda-se para a cultura do milho a aplicação de 40 kg.ha⁻¹ a 50 kg.ha⁻¹ de nitrogênio no plantio e o restante em cobertura, na fase de 4 a 8 folhas até somar aproximadamente 120 kg.ha⁻¹ a 150 kg.ha⁻¹ (YAMADA & ABDALLA, 2000). Para altas produtividades, em lavouras acima de 8 ton/ha⁻¹, é recomendada doses acima de 140 kg/ha⁻¹ de N (RIBEIRO et al., 1999).

O aumento da demanda por fertilizantes nitrogenados, aliado ao seu elevado custo, tem direcionado as pesquisas para o processo de fixação natural (SAIKIA & JAIN, 2007). Dentre estes, alguns estudos envolvendo inoculação das sementes com estirpes de *Azospirillum* tem sido realizados com objetivo identificar seu potencial de colonizar raízes e colmos das plantas, uma vez que atuam na disponibilidade de N para planta, como também na produção de auxinas, substâncias responsáveis pelo estímulo do crescimento, podendo reduzir a utilização de fertilizantes nitrogenados sintéticos na cultura do milho (REIS, 2010).

Segundo, Barros Neto (2008) em um experimento realizado em Ponta Grossa-PR, o cultivo de milho em associação com a bactéria *Azospirillum brasilense* resultou em uma redução de até 50 kg ha⁻¹ de N. Já Hungria (2011), verificou incremento médio de 24% a 30% no rendimento de grãos de milho quando inoculados com a bactéria *Azospirillum brasilense*. Ainda, segundo Hungria (2011), a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* associada à aplicação de 24kg ha⁻¹ de N na semeadura e 30kg ha⁻¹ de N no florescimento podem proporcionar rendimento médio de 7.000kg ha⁻¹.

Assim, dada a ausência de estudos sobre o efeito da bactéria *Azospirillum brasilense* no teor e no rendimento de óleo na cultura do milho, associada ou não ao uso de nitrogênio, em cultivo de entressafra, foi proposto o presente trabalho.

2- OBJETIVOS

2.1- Geral

Avaliar os efeitos da inoculação de *Azospirillum brasilense*, em associação ou não ao uso de nitrogênio, no teor e no rendimento de óleo em genótipos de milho, em cultivo de entressafra, visando à produção de Biodiesel.

2.2- Específicos

Estudar o comportamento de genótipos de milho, em associação ou não ao uso de nitrogênio, no teor e no rendimento de óleo, visando à produção de Biodiesel.

Avaliar o efeito das épocas de semeadura nos genótipos de milho, em associação ou não ao uso de nitrogênio, no teor e no rendimento de óleo, visando à produção de Biodiesel.

Estudar o efeito da bactéria *Azospirillum brasilense*, em associação ou não com nitrogênio, no teor e no rendimento de óleo, visando à produção de Biodiesel.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

O milho, uma planta originária das Américas, pertencente à família Poaceae e gênero *Zea*, é uma gramínea anual de metabolismo C4, alógama, segundo Garcia, et al. (2006), cuja a domesticação ocorreu de um ancestral selvagem (teosinte), que já ultrapassa os nove mil anos. É uma planta cultivada em todos os continentes, e sua principal importância econômica está na sua elevada produtividade, seu valor nutritivo, suas formas utilizadas na alimentação humana e animal e como biocombustível.

A importância econômica do milho é caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vai desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia (EMBRAPA, 2010). O milho classificado como milho verde destina-se principalmente ao consumo humano in natura como também para processamento pelas indústrias de produtos em conserva (BORIN, 2005; OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2006).

De acordo com Roscoe (2007), no Brasil, há condições extremamente favoráveis para a produção de grãos, com a abundância de água e luz que temos. Contudo, esses recursos devem estar associados a um forte caráter inovador. Assim, faz-se necessário o entendimento sobre os processos biológicos que deve incorporar aos sistemas de produção, estratégias de controle biológico de pragas, fixação biológica de nitrogênio, bioativadores, fertilizantes organominerais. Enfim, o crescimento em produtividade sempre deve estar acompanhado da sustentabilidade e qualidade nos alimentos produzidos.

Segundo Hungria (2011), a inoculação das sementes de milho *Azospirillum brasilense* pode resultar em benefícios econômicos para os agricultores, em virtude da redução do uso de adubos nitrogenados, além de reduzir a poluição ambiental e a emissão de gases de efeito estufa.

O mais importante do ponto de vista ambiental é o de aumentar a produção sem desmatamento, com uso e recuperação das áreas de pastagens degradadas, através do uso de práticas conservacionistas como plantio direto e adoção de variedades adaptadas às regiões dos climas tropicais do cerrado (EMBRAPA, 2015).

O milho responde bem as tecnologias com alto potencial produtivo, sendo cultivado principalmente no sistema convencional mecanizado, mas com alto potencial para o plantio direto. Por seus efeitos benéficos sobre os atributos físicos, químicos e biológicos do solo, pode-se afirmar que o plantio direto é essencial para alcançar a sustentabilidade dos sistemas agropecuários (CRUZ et al., 2001).

A cultura do milho tem a vantagem de deixar grande quantidade de restos culturais que, uma vez bem manejados, podem contribuir para reduzir a erosão e melhorar o solo. Dessa forma, sua inclusão em esquema de rotação é fundamental. A sustentabilidade do sistema de produção não está apoiada apenas em aspectos de conservação e preservação ambiental, mas também nos aspectos econômicos e comerciais (CRUZ et al., 2006).

Apesar da relevância da cultura do milho na economia do Brasil, a produtividade média do país não tem ultrapassado aos 5.396kg ha⁻¹ safra 2014/2015 e na safra atual no levantamento de junho 2016, sofreu ainda uma redução para 4.389kg ha⁻¹. (CONAB, 2016). Esse valor é muito baixo, se comparado aos rendimentos superiores a 10.000kg ha⁻¹, que têm sido obtidos em condições experimentais em produtividade média de países como os Estados Unidos (SANGOI et al., 2015).

Segundo Sangoi et al. (2010b), a baixa produtividade pode ser atribuída a vários fatores, tais como o uso de genótipos com baixo potencial produtivo, a não adaptação a região, épocas de semeadura impróprias, a escolha inadequada da população de plantas e baixas doses de fertilizantes nitrogenados.

As características agronômicas introduzidas nos genótipos de milho desenvolvidos mais recentemente, como menor esterilidade de plantas, maior sincronismo entre pendoamento e espigamento, menor estatura da planta e altura de inserção da espiga, plantas com folhas de angulação mais ereta e elevado potencial produtivo determinam a necessidade de reavaliar as recomendações de práticas de manejo adotadas na cultura do milho (TAKASU et al., 2012).

3.1- Fisiologia

Segundo Ritchie et al. (2003), a fisiologia do milho tem início com a germinação, que exige uma temperatura mínima do ar de 10 °C e dura entre 6 e 10 dias, conforme a temperatura e condição hídrica do solo.

O desenvolvimento da planta pode ser acompanhado pela sua fenologia que se apresenta em dois estádios distintos (estádio vegetativo e estágio reprodutivo). O estágio vegetativo inicia com a emergência das plântulas (VE), e seu desenvolvimento ocorre de V1, V2, V3..., podendo ultrapassar a V18, sendo a primeira folha e 18ª folha desenvolvidas respectivamente. Por outro lado, o estágio reprodutivo ocorre no VT (pendoamento), seguido de R1 até o R6 na maturidade fisiológica dos grãos (RITCHIE et al., 2003).

O conhecimento dos estádios fenológicos das culturas é de fundamental importância para se definir o planejamento, bem como para se conhecer os hábitos e possibilidades de adaptação da cultura em relação ao clima, necessidades hídricas, formas de cultivo, fotoperiodicidade e outros fatores que contribuem para o aumento da produtividade (MAGALHÃES, 2003).

A planta possui sistema radicular fasciculado que pode atingir maiores profundidades mais o ideal se encontra na camada de 0-30cm no solo, o caule é do tipo colmo cheio, constituído por nós e entrenós, suas folhas lanceoladas-paralelinérveas são inseridas no caule alternadamente, a sua inflorescência masculina é o pendão e a feminina a espiga, sendo o fruto classificado como cariopse (MAGALHÃES et al., 1994).

O milho seus grãos são geralmente amarelos ou brancos, com pesos variando de 250 a 300mg, a média geral de sua composição química em base seca é 60% de carboidratos, 10% de proteína, 5% de lipídios e 9% de fibra e restante de minerais e vitaminas (FORNASIERI-FILHO, 2007).

3.2- Importância e Utilização

Com o desafio que teremos, de alimentar o mundo, hoje com uma população mundial que já ultrapassa sete bilhões de pessoas e que estimativas para 2050 superará a casa dos nove bilhões habitantes, o Brasil é muito importante dentro desse cenário e a cultura do milho terá sua grande relevância, nesta estratégia mundial (BESERRA, 2015).

Segundo Menegaldo (2011), além de seu alto prestígio no agronegócio, o milho também é uma das culturas mais cultivadas pela agricultura familiar brasileira, tanto para a subsistência, quanto para a venda local.

Para Paes (2006), o milho é produzido em quase todos os continentes, sendo sua importância econômica caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vão desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia, como a produção de filmes e embalagens biodegradáveis. Cerca de 70% da produção mundial de milho é destinada à alimentação animal, podendo este percentual chegar a 85%, em países desenvolvidos. Em termos gerais, apenas 15% de toda a produção mundial destina-se ao consumo humano, de forma direta ou indireta.

O uso primário do milho nos Estados Unidos e no Canadá é para a alimentação de animais. O Brasil tem situação parecida, sendo 84% do milho destinado para a alimentação animal, principalmente avicultura e suinocultura, e 11% para a indústria, para diversos fins, tais como alimentos, elementos espessantes e colantes (para diversos fins) e na produção de óleos (MENEGALDO, 2011).

Atualmente, somente cerca de 5% de produção brasileira se destina ao consumo humano e, mesmo assim, de maneira indireta na composição de outros produtos. Isto se deve principalmente à falta de informação sobre o milho e à ausência de uma maior divulgação de suas qualidades nutricionais, bem como aos hábitos alimentares da população brasileira, que privilegia outros grãos, tais como o arroz e o feijão (MENEGALDO, 2011). Contudo, o cereal é a matéria-prima principal de vários pratos da culinária típica brasileira como canjica, cuscuz, polenta, angu, mingaus, pamonhas, cremes, entre outros, como bolos, pipoca ou simplesmente milho cozido ou assado, sendo um alimento com alto potencial energético devido ao seu importante teor de amido (MENEGALDO, 2011).

O milho puro ou como ingrediente de outros produtos, é uma importante fonte energética para o homem, diferente do arroz e do trigo, que tem sua casca eliminada no processamento industrial, casca esta que é rica em fibras e fundamental para eliminação de toxinas no organismo humano. Além disso, o grão agrega também os carboidratos, proteínas, vitaminas do complexo B e vários sais minerais como: ferro, fósforo, potássio e zinco (ABIMILHO, 2008).

Já Paes (2006), afirma que na maioria dos países do oeste africano, o milho satisfaz mais da metade das exigências totais de minerais em dietas das comunidades rurais, sendo tradicionalmente utilizado no preparo de pães, bebidas e mingaus ou papas, fermentados ou não, de textura fina a grossa.

3.3- Adubação Nitrogenada

O nitrogênio (N) é um dos nutrientes de maior relevância para bom desempenho das plantas, pois a maioria dos sistemas de cultivo depois de serem fertilizados com N, apresentam potenciais elevados de produtividade (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O N na planta é indispensável por fazer parte, por exemplo, dos nucleosídeos de fosfato e aminoácidos, que compõe a estrutura dos ácidos nucléicos e das proteínas, e é sem dúvida um limitante da produção, principalmente de gramíneas de alto rendimento de grãos, como é o caso do milho.

Desta forma, o uso de fertilizantes nitrogenados é uma prática comum, sendo responsável por elevar os custos da produção agrícola, além de poder gerar danos ao ambiente, uma vez que parte do total aplicado ao solo é perdido, algo em torno de 50%, devido à ação de processos como a lixiviação, volatilização de amônia, desnitrificação, erosão e imobilização microbiana (REIS JUNIOR et al., 2010).

Por outro lado, o nitrogênio fornecido pelo processo de fixação biológica é menos propenso a lixiviação e volatilização, já que é utilizado *in situ*, sendo assim, uma alternativa barata, limpa e sustentável para o fornecimento de N na agricultura comercial (HUERGO, 2006).

De modo geral, recomenda-se aplicar de 35 a 50 kg ha⁻¹ de N na semeadura do milho, ao passo que em doses acima de 140kg ha⁻¹, a mesma deverá ser realizada em cobertura, parcelada ou não, de acordo a necessidade da análise de solo e a expectativa de produtividade (RIBEIRO et al., 1999).

As recomendações de adubação nitrogenada deverão atender principalmente as fases de exigências nutricionais da cultura do milho, onde o estágio V4 (quatro folhas expandidas) da cultura é a fase de definição do número de óvulos e ovários que vão formar a espiga (RITCHIE et al., 2003). Além disso, entre V4 e V12 (doze folhas expandidas) ocorre a definição do número de fileiras e do tamanho da espiga, que são componentes de rendimento de grãos do milho (VITTI & BARROS, 2001).

3.4- Fixação Biológica e *Azospirillum brasilense*

A principal fonte de N na natureza é a atmosfera constituída de aproximadamente 78% de N₂, que é limitante para o rendimento de grãos de gramíneas, como o milho e trigo (TAIZ & ZEIGER, 2004). Porém, segundo os mesmos autores, esta

quantidade não está diretamente disponível aos seres vivos, precisando de fixação através de processo industrial ou natural.

No solo, o N encontra-se nas formas orgânicas (matéria orgânica e resíduos culturais), mineral (solução do solo e adsorvido a argilas) e gasosa (nos poros). As principais formas disponíveis são amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-).

Nas gramíneas, a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) é conhecida desde que a bactéria *Beijerinckia fluminensis* foi isolada da rizosfera de cana-de-açúcar. Contudo, foi somente após a redescoberta de bactérias do gênero *Azospirillum* que aumentou o interesse pelo estudo da fixação biológica em gramíneas (BALDANI, 2005).

Existem inúmeras bactérias, chamadas diazotróficas, identificadas e capazes de fixarem N_2 e fornecê-lo às plantas através de associação, principalmente as do gênero *Azospirillum* que ocorrem no interior das raízes, entre os espaços intercelulares ou até dentro de algumas células da raiz (SIQUEIRA & FRANCO, 1988). Estas bactérias são de vida livre e estão amplamente distribuídas no solo, e podem estabelecer associação com as plantas, promover seu crescimento e fornecer nitrogênio através da fixação biológica ou posteriormente através da sua mineralização (HUNGRIA, 2011).

Nos últimos anos, acentuaram-se estudos sobre o efeito dessa bactéria no desenvolvimento de gramíneas (milho, sorgo e trigo), principalmente com relação ao rendimento de grãos e às alterações fisiológicas. O grande interesse de estudos nessa área se deve a fixação biológica que, em gramíneas, apresenta maior facilidade de aproveitamento de água e maior efetividade fotossintética (BARILLI et al., 2011).

A inoculação modifica a morfologia do sistema radicular, incrementa o número de radículas, o diâmetro das raízes laterais e adventícias devido, provavelmente, à produção pela bactéria, de substâncias promotoras do crescimento, como auxinas, giberelinas e citocininas, e não somente pela fixação biológica de nitrogênio (FBN) (CAVALLET et al., 2000).

Segundo Didonet (1993), é possível que os efeitos benéficos atribuídos à inoculação da planta com *Azospirillum* resultem da combinação de diferentes mecanismos que, em conjunto, desencadeiam vários fenômenos nas substâncias capazes de desencadear estes efeitos nos fitormônios, que como resultado final promovem o melhor desempenho da planta.

Na maioria dos casos, a inoculação com *Azospirillum* proporciona aumento de massa seca, de produção de grãos e de acúmulo de N nas plantas, particularmente quando

relacionada a genótipos não melhorados em presença de baixa disponibilidade de N (OKON & VANDERLEYDEN, 1997).

Neste sentido, em virtude dos efeitos benéficos da bactéria do gênero *Azospirillum*, a mesma tem sido uma alternativa para aumentar o rendimento de grãos de muitos cereais no campo em até 30%, ou mais quando em condições controladas (BASHAN & HOLGUIN, 1997).

3.5- Teor de óleo nos grãos

O grão de milho contém em média cerca de 4% de óleo, mas há registros de cultivares que ultrapassam os 5%. O óleo de milho, que é extraído do gérmen, contém em sua composição ácidos graxos insaturados (MENEGALDO, 2011).

O grão é uma excelente fonte de energia, com uma a maior participação percentual na composição da ração de frangos e suínos, podendo chegar até 80% dependendo do momento do ciclo de engorda. Este grão pode ser alterado geneticamente, visando aumento de determinados nutrientes como aumento dos níveis de óleo (energia), de proteína e aminoácidos essenciais como Lisina e Triptofano, fazendo com que o custo e a conversão da alimentação animal, sejam mais eficientes (REGINA & SOLFERINI, 2004).

Na nutrição animal, onde o milho entra com a maior fração, um cultivar com maior percentual de óleo se torna muito mais vantajoso, devido a seu maior teor energético (ALEXANDER, 1988).

Em aves alimentadas com grãos de milho com alto teor de óleo (6-13%), quando comparadas com as alimentadas com grãos com menor teor de óleo (4,5%), houve um aumento da produção de ovos e peso corporal, bem como melhora na pigmentação da pele, atributos importantes na qualidade da carcaça (HAN et al., 1987).

Em suínos, foi observado ganho de peso e na qualidade da carcaça, quando alimentados com milho com alto teor de óleo, (ADAMS & JENSEN, 1987). Já em bovinos, quando alimentados com alto teor de óleo, foi observado incremento no crescimento dos animais e, conseqüentemente, melhora no ganho de peso corporal (ALEXANDER, 1988).

CAPITULO 2 – EFEITO DO *Azospirillum brasilense* E NITROGÊNIO NO TEOR E NO RENDIMENTO DE ÓLEO NOS GRÃOS DE MILHO, EM CULTIVO DE ENTRESSAFRA, VISANDO A PRODUÇÃO DE BIODIESEL

4.1- INTRODUÇÃO

Com o crescente desenvolvimento agrícola, a necessidade de obter plantas com características cada vez mais adaptáveis e superiores se tornaram primordial. Tendo em vista o aumento substancial da população mundial, a demanda por alimentos é cada vez maior, resultando em elevado aumento da produtividade agrícola mundial. Tal aumento deve-se em parte aos programas de melhoramento genético vegetal e ao manejo adequado da cultura (BORÉM; MIRANDA, 2013).

Atualmente, o Brasil é um dos maiores produtores mundiais de milho, com uma produção estimada de 82 milhões de toneladas, para safra 2016/2017 (USDA, 2016), ocupando uma área de 15,4 milhões de hectares, segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). Trata-se de uma cultura que pode ser cultivada em diversos sistemas produtivos, e no país é plantada principalmente nas regiões do Centro Oeste, Sudeste e Sul, sendo o Mato Grosso, o maior produtor do país, com uma produção de mais de 20 milhões de toneladas (CONAB, 2016).

Uma das novidades é que nos últimos anos, vem se buscando aumentar a produção sem aumentar a área plantada, com a utilização de recuperação de áreas degradadas por pastagens (GAI, 2016).

Com o Plano Nacional de Agroenergia, estabeleceu-se um marco e um rumo para as ações públicas e privadas de geração de conhecimento e tecnologias que contribuam para uma produção agrícola sustentável, encaminhada à geração de energias limpas e ao uso racional das mesmas. Suas metas prioritárias tornam competitivo o agronegócio brasileiro e dar suporte às políticas públicas voltadas à inclusão social, à regionalização do desenvolvimento e à sustentabilidade ambiental (POMPELLI, 2011).

A busca por fontes energéticas alternativas deriva principalmente de um cenário de elevação sistemática do preço do barril de petróleo, vivenciado a partir da década de 1970. Essa busca ocorre, também, pela finitude de reservas energéticas de petróleo e por pressões, por parte da sociedade civil organizada, em face do impacto ambiental decorrente da queima de combustíveis fósseis. Sob a perspectiva do consumo de energia, o mundo tende ao

contínuo aumento da demanda. Essa tendência cria a necessidade de esforços mundiais que propiciem o aumento da oferta e a diversificação da matriz energética (ODERICH, 2013).

A preocupação quanto aos problemas ambientais, como a degradação e exaustão dos recursos naturais, bem como a poluição atmosférica e o aquecimento global, tem levado governos e cientistas a identificar alternativas e buscar soluções para mitigar tais problemas. É nesse contexto que, desde o início do século XXI, o debate internacional sobre biocombustíveis ganhou expressão e está presente na maior parte das conferências mundiais sobre desenvolvimento sustentável (FAO, 2008b).

No estado do Tocantins, as perspectivas para a cultura do milho são extremamente favoráveis, uma vez que o mesmo encontra-se inserido no bioma Cerrado, com condições edafoclimáticas favoráveis ao cultivo deste cereal. Nesta região, segundo MAPA (Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento e EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), as previsões até a safra 2021/22, são que 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, o que irá atingir safras recordes de grãos, sendo o milho uma das principais culturas (EMBRAPA, 2015).

O uso de fertilizantes nitrogenados, além dos altos custos, também é perdido grandes quantidades por volatilização e lixiviação quando aplicados em ambientes desfavoráveis. Por tanto para amenizar esses gargalos, tem-se buscado diferentes tipos de manejos que possam incrementar a produtividade, tais como a adoção do sistema de plantio direto, melhoramento genético, uso de adubos orgânicos e bioestimulantes e o uso de bactérias fixadoras de nitrogênio (GAI, 2016).

O gênero *Azospirillum brasilense* vem despertando cada vez mais o interesse de pesquisadores da área agrônômica pela sua associação das bactérias diazotróficas com as gramíneas. Essas bactérias fixam o nitrogênio atmosférico e, posteriormente, o disponibilizam para a planta em até 50% do N necessário (BÁRBARO et al., 2008).

Segundo Santos et al. (2014) as médias de teor de óleo nos grãos de genótipos de milho, nos ensaios de alto, médio e baixo N, em duas épocas de plantio, encontrou-se teores de óleo que variaram de 3,5% (UFT 8) a 6,6% (UFT 3), dados corroboram com as faixas encontradas nas literaturas. Santos et al. (2014) também concluiu que o genótipo UFT 2 foi eficiente para teor de óleo, e viável economicamente ao menor uso de insumos nitrogenados.

Por estas razões é que buscamos o aprofundamento em estudos sobre o efeito da bactéria *Azospirillum brasilense* no teor e no rendimento de óleo na cultura do milho, em

associação ou não com doses de nitrogênio, em cultivo de entressafra, visando à produção de Biodiesel.

4.2 - MATERIAIS E MÉTODOS

Na entressafra 2015, foram conduzidos dois ensaios 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 julho 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, encontra-se na Tabela 01.

Tabela 01: Caracterização físico-química do solo utilizado nos ensaios da entressafra 2015.

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

Nas Figuras 01 e 02 são apresentados, respectivamente, os dados pluviométricos (mm) mensais e as temperatura média (°C) semanais, no período de condução dos ensaios experimentais (julho a dezembro de 2015).

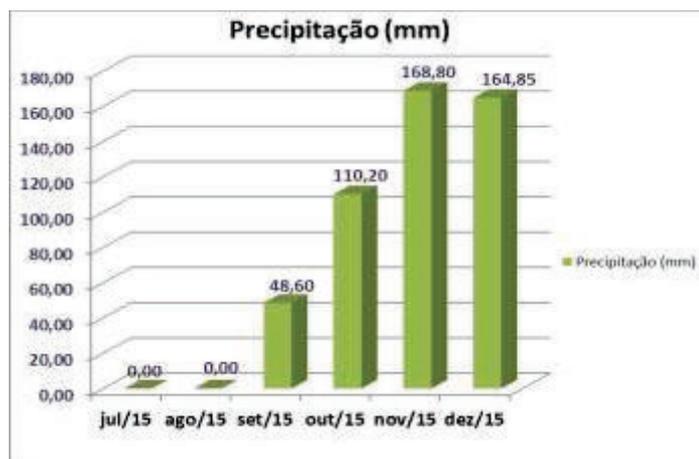


Figura 01. Médias de Precipitação (mm) de Julho a Dezembro, ocorridas durante a condução dos ensaios experimentais na entressafra 2015, Fonte: UFT&INMET, 2015.

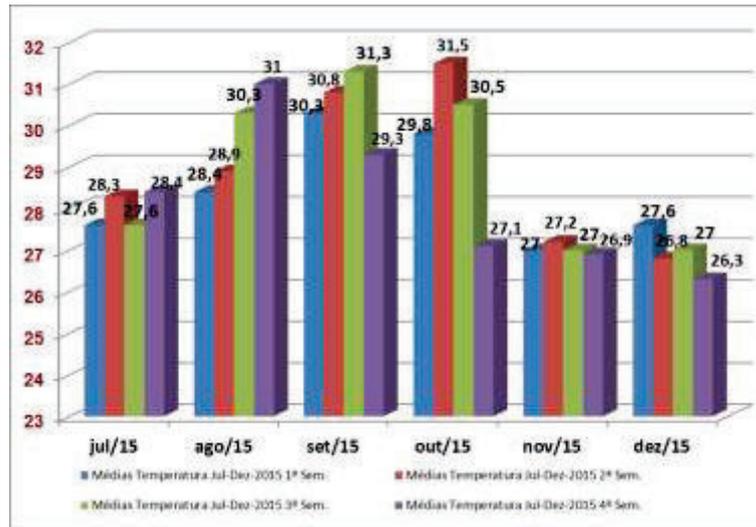


Figura 02. Médias de Temperaturas (°C) semanais de Julho a Dezembro, ocorridas durante a condução dos ensaios experimentais na entressafra 2015. Fonte: UFT&INMET, 2015.

O delineamento experimental utilizado, em cada época ensaio, foi de blocos casualizados com 30 tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram dispostos em um esquema fatorial $2 \times 3 \times 5$, representado por dois processos de inoculação das sementes (com e sem inoculação com *Azospirillum brasilense*), três genótipos de milho (Orion e Al Bandeirante, ambas variedades de polinização aberta, e o Híbrido Duplo AG-1051) e cinco doses de nitrogênio (0, 50, 100, 150 e 200kg ha⁻¹) realizadas em cobertura, utilizando sulfato de amônia, em doses fracionada, sendo metade de cada dose aplicada em V4 (quatro folhas completamente desenvolvidas) e metade em V6 (seis folhas completamente desenvolvidas), conforme a escala de (RITCHIE et al., 1993).

A parcela experimental foi representada por duas fileiras de três metros e espaçadas de um metro com área útil de 6m².

O preparo do solo foi realizado através de aração e gradagem niveladora convencional, seguida de sulcamento. No fundo do sulco de semeadura foi realizada, manualmente, adubação com 70kg ha⁻¹ de P₂O₅, na forma de superfosfato simples, e 48kg ha⁻¹ de K₂O, utilizando cloreto de potássio.

Nos tratamentos com *Azospirillum brasilense*, as sementes foram inoculadas com o produto comercial *GRAP NODa*, estirpes AbV5 e AbV6, na dose de 100ml para cada 25kg de sementes, sendo imediatamente semeadas.

Não foi necessária a realização de calagem do solo, após análise de solo, uma vez que o pH foi de 6.5. Segundo Coelho e Verlengia (1973), quando o pH do solo se encontra dentro da faixa considerada adequada para a cultura do milho (5,5 a 6,5), ocorre máxima

atividade microbiana no solo, o que favorece o desenvolvimento da bactéria *Azospirillum brasilense*.

Os tratos culturais, como o controle de plantas daninhas foram realizados através da aplicação de herbicida *Atrazina* (Atrazinax®), imediatamente após a semeadura, na dose recomendada pelo fabricante (seis litros/ha⁻¹). Posteriormente, foram realizadas capinas quando necessárias. Não houve necessidade de controle de doenças e pragas.

Foi realizada irrigação sempre que necessário em virtude da ausência de chuvas no período de condução dos ensaios (entressafra), através do uso de aspersores tipo canhão.

A colheita foi realizada quando os grãos atingiram a maturidade fisiológica (plantas em estágio R6), sendo colhidas manualmente todas as espigas das duas fileiras de cada parcela experimental, que foram identificadas. Em seguida, as espigas foram trilhadas, os grãos pesados (kg ha⁻¹), acondicionados em saco de papel e transportados para o Laboratório do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins - Campus de Palmas, onde foi realizada a moagem.

Após a moagem dos grãos, foi retirada uma amostra e pesada em balança de precisão para ser determinado o teor de óleo dos grãos (%), utilizando o método de Soxhlet, segundo (IAL, 2005). O rendimento de óleo foi obtido através da multiplicação do teor de óleo pela produtividade de grãos e os resultados expressos em kg ha⁻¹.

Após esta fase, os dados do teor de óleo (%) e rendimento de óleo (kg ha⁻¹) foram submetidos à análise de variância, ao nível de 5% de significância.

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.

Com o intuito de obter um erro experimental de maior precisão, os graus de liberdade da interação quadrupla (épocas x genótipos x processos de inoculação x adubação) foram adicionados ao erro experimental. Com esta adição, os valores calculados das fontes de variação resultam em valores de F maiores, aumentando a probabilidade de detectar diferenças significativas (GOMES, 2009).

Os programas estatísticos utilizados foram o SISVAR 5.0 (FERREIRA, 2011) e para a construção dos gráficos utilizou-se o software Origin Pro 8.0.

4.3- RESULTADOS E DISCUSSÕES

O resumo da análise de variância para o teor de óleo (%) e rendimento de óleo (kg ha^{-1}) revelou efeito significativo para todos os fatores, com exceção de Blocos/Épocas, para ambas as características, Épocas x Processos de inoculação, para teor de óleo, e de Genótipos x Processos de Inoculação, para rendimento de óleo (Tabela 02). A significância das interações triplas indica que os efeitos dos fatores isolados não explicam toda a variação encontrada, sendo assim realizados os desdobramentos.

Tabela 02: Resumo da análise de variância conjunta para teor de óleo (%) e rendimento de óleo (Kg ha^{-1}) 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.

FV	GL	QM	
		Óleo (%)	Rendimento (kg ha^{-1})
ÉPOCAS	1	2.4*	9599.24*
GENÓTIPOS	2	48.2*	58639.65*
PROCESSOS INOCULAÇÃO (C/A e S/A)	1	2.2*	21820.72*
NITROGÊNIO	4	3.7*	35955.23*
BLOCOS /ÉPOCA	4	0.07 ^{ns}	1059.24 ^{ns}
ÉPOCAS x GENOTIPOS	2	4.8*	35115.32*
ÉPOCAS x PROCESSOS DE INOCULAÇÃO	1	0.02 ^{ns}	182652.75*
ÉPOCAS x NITROGÊNIO	4	1.6*	6175.20*
GENÓTIPOS X PROCESSOS DE INOCULAÇÃO	2	1.0*	3407.71 ^{ns}
GENÓTIPOS x NITROGÊNIO	8	4.4*	13678.02*
PROCESSOS DE INOCULAÇÃO x NITROGÊNIO	4	2.9*	10331.80*
EPOCAS x GENÓTIPOS x PROCESSOS DE INOCULAÇÃO	2	7.3*	11605.13*
EPOCAS x PROCESSOS DE INOCULAÇÃO x NITROGÊNIO	4	2.6*	10101.80*
EPOCAS x GENÓTIPOS X NITROGÊNIO	8	5.4*	17884.87*
GENÓTIPOS x PROCESSOS DE INOCULAÇÃO x NITROGÊNIO	8	1.8*	5654.91*
Erro		124	128
CV (%)		6.50	15.7
Média Geral		5.577	248.080

ns: não significativo; * significativo pelo teste F a 5% de significância.

4.3.1- Teor de óleo

4.3.1.1- Comparação de médias

Na Tabela 03, o estudo comparativo entre as médias dos processos (C/A e S/A, com e sem *Azospirillum*, respectivamente), para cada genótipo em cada época de semeadura, revelou que na primeira época (10/07), a variedade Orion e o Híbrido AG-1051 apresentaram maior teor de óleo (6,2 e 4,8%, respectivamente) com a presença do *Azospirillum* (C/A), enquanto que a variedade Al Bandeirante obteve um maior valor sem a presença do *Azospirillum* (S/A). Já na segunda época (01/08), Orion e Al Band., tiveram um maior teor de óleo em C/A (5,8 e 6,5%, respectivamente), enquanto que o Híbrido AG-1051 teve seu melhor resultado em S/A.

Tabela 03: Médias do teor de óleo (%) em três genótipos de milho, com e sem inoculação de *Azospirillum brasilense*, em duas épocas de semeadura, em Palmas- TO, na entressafra 2015.

Genótipos	Época 1 (10/07)		Época 2 (01/08)	
	C/A	S/A	C/A	S/A
Orion	6.2aB1	5.6aB2	5.8bB1	5.3bB2
Al. Band.	6.5aA2	7.0aA1	6.5aA1	5.6bA2
AG-1051	4.8aC1	4.1bC2	4.5bC2	5.2aB1

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

O tratamento com *Azospirillum* proporcionou, de modo geral, um maior teor de óleo devido ao efeito da bactéria na biossíntese de óleo. Estes resultados corroboram com Didonet (1993), que observou que os efeitos benéficos atribuídos à inoculação da planta com *Azospirillum* são oriundos da combinação de diferentes mecanismos que em conjunto desencadeiam vários fenômenos. Além disso, segundo Bashan et al. (2004), a inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum*, resultam em plantas mais saudáveis, mais produtivas, com maior capacidade fotossintética.

Por outro lado, a comparação entre as épocas de semeadura, para cada genótipo e processo de inoculação, revelou um maior teor de óleo nos grãos, independentemente dos genótipos e processos, na primeira época.

Os maiores teores de óleo na primeira época de semeadura, provavelmente, estão associados à ocorrência de temperaturas noturnas mais altas nesta época (Figuras 02) na fase de enchimento dos grãos (estádios R₂ a R₅), que ocorreu dos 50-55 a 80-85 dias após emergência.

Segundo Albrecht et al. (2008), a ocorrência de temperaturas altas na fase de enchimento de grãos de leguminosas, promovem distúrbios bioquímicos na biossíntese de óleo.

De acordo Theisen e Gnatta (2000), é necessário considerar as condições de cultivo no processo de inoculação, uma vez que as mesmas podem afetar a atividade das bactérias diazotróficas.

O genótipo Al Band, independente dos processos e das épocas, apresentou um maior teor de óleo nos grãos. Segundo Mittelman, (2014), as diferenças no teor de óleo, de um genótipo para outro, pode ser explicada em função do mesmo ser um caráter quantitativo, controlado por vários genes, onde a influência do genótipo da planta mãe é apontada como o efeito predominante na determinação do conteúdo de óleo nos grãos.

Segundo Nehl et al. (1996), a simbiose entre o genótipo e a bactéria é determinada pela qualidade dos exsudatos liberados pelas raízes da planta, que pode ter ocorrido de forma mais efetiva nos genótipos de polinização aberta, com especial referência para Al Bandeirantes.

O estudo comparativo entre os genótipos, dentro de cada época e doses de nitrogênio (Tabela 04), revelou que o Al bandeirante foi superior em quase todas as doses de N, e em ambas as épocas de semeadura, com exceção da dose de N de 100kg ha⁻¹, em que Orion foi estatisticamente superior na primeira época. Por outro lado, o Híbrido AG-1051 apresentou o pior desempenho dentre os genótipos em todas as doses e nas duas épocas.

O teor de óleo no milho é regido por poligenes e, portanto quantitativo (Dudley et al., 1981) e apresenta uma alta herdabilidade para este caráter, ao redor de 70% (Hallauer & Miranda Filho, 1988). Fatores ambientais podem afetar os teores de óleo no milho, mas o efeito do genótipo no valor do conteúdo de óleo é muito maior (JELLUM & MARION, 1966; SOLFERINI, 2010).

Tabela 04: Média do teor de óleo (%) em duas épocas de semeadura, sob cinco níveis de adubação nitrogenada, em três genótipos de milho em Palmas – TO, entressafra 2015.

Nitrogênio Kg ha ⁻¹	Época 1 (10/07)			Época 2 (01/08)		
	Orion	Al. Band.	AG-1051	Orion	Al. Band.	AG-1051
0	5.3bC2	6.3aD1	4.7aA3	5.8aA1	5.6bB1	4.5aC2
50	6.7aA2	8.6aA1	4.2bB3	5.0bB3	6.3bA1	5.8aA2
100	6.6aA1	4.3bE3	5.1aA2	5.5bA1	5.8aB1	4.7bC2
150	5.1bC2	7.5aB1	3.8bB3	5.9aA1	6.2bA1	5.3aB2
200	5.7aB2	7.0aC1	4.2aB1	5.5aA2	6.3bA1	3.8aD3

1- Médias dos genótipos dentro da mesma época e da mesma dose de Nitrogênio, seguido pelo mesmo Número 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) para o do mesmo genótipo e mesma dose de N, seguido pelo 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 das doses para cada genótipo e mesma época de semeadura, seguido pelo mesma letra Maiúscula na coluna pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Gallais e Hirel (2004) constataram que os alelos responsáveis para o controle genético da eficiência de N são expressos de acordo com o grau de disponibilidade do mesmo. Bueno et al. (2009), avaliando o controle genético do teor de proteínas nos grãos e de caracteres agrônômicos de milho, cultivado com diferentes níveis de adubação nitrogenada, concluíram que a produção de grãos de milho apresenta controle genético variável, de acordo com a disponibilidade de nitrogênio.

Santos et al (2015) estudaram a eficiência do uso de nitrogênio (EUN) em 12 genótipos de milho de polinização aberta, para o teor de óleo dos grãos, no estado do Tocantins, e verificaram diferenças genéticas entre os mesmos. As condições de cultivo, para cada um dos genótipos, envolveu o uso de alto nitrogênio (140 kg ha⁻¹ de N), médio (80 kg ha⁻¹ de N) e baixo (0 kg ha⁻¹ de N).

Quando comparadas primeira época (10/07) com a segunda época (01/08), para cada um dos genótipos e em cada uma das doses de N, observou-se uma tendência de maior conteúdo de óleo para os genótipos Orion e Al Band, na primeira época, e do híbrido AG-1051, na segunda época.

Para as variedades Orion e Al Band tal fato ocorreu, provavelmente, em virtude da ocorrência de temperaturas noturnas mais altas nos ensaios da primeira época (Figura 2), no período de enchimento dos grãos (estádios R₂ a R₅), que ocorreu dos 50-55 a 80-85 dias após emergência.

Segundo Jellum e Marion (1966); Solferini (2010); Letchworth e Lambert (1988) fatores ambientais podem afetar os teores de óleo no milho, mas o efeito do genótipo no valor do conteúdo de óleo é muito maior.

O estudo comparativo das doses de N, para cada um dos genótipos e em cada uma das épocas, foi realizado pelo teste de média, uma vez que não houve relação funcional entre as doses de N e os genótipos.

Na primeira época, para Orion e Al Band, a dose 50 kg ha⁻¹ proporcionou um maior teor de óleo (6,7 e 8,6% respectivamente). Enquanto que o AG-1051, o maior teor de óleo foi obtido nas doses de 0 e 100 kg ha⁻¹, da primeira época. Para a 2ª época, foram observadas inconsistências de respostas das variedades de polinização aberta Orion e Al Band. Já para o híbrido AG-1051, a dose de 50kg ha⁻¹ foi a que resultou em um maior percentual de óleo nos grãos (5,8%).

Segundo, Okumura et al. (2011) em pesquisas anteriores foram demonstrado que o N é um macronutriente primário mais exigido pelo milho e, frequentemente, é o que mais limita a produtividade de grãos. Além disso, promove alterações no peso de cem sementes e peso hectolitro Cancellier et al. (2011), com pequena alteração no teor de óleo dos grãos (WELCH, 1969; DUARTE et al., 2005).

Na Tabela 05, o estudo comparativo das médias do teor de óleo entre os processos (C/A e S/A), para cada genótipo e em cada dose de N, mostrou para os genótipos Orion e AG-1051, resposta de incremento no teor de óleo quando as sementes foram inoculadas com *Azospirillum*, independente das doses de N. Por outro lado, para Al Band, houve resposta significativa para o teor de óleo nas doses mais altas quando inoculadas as sementes com *Azospirillum*.

Tabela 05: Média do teor de óleo (%) de três genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015.

Nitrogênio Kg ha ⁻¹	Orion		Al. Band.		AG-1051	
	C/A	S/A	C/A	S/A	C/A	S/A
0	5.8aA1	5.2bB2	5.9aB1	6.1aB1	3.9bC2	5.4bA1
50	6.0bA1	5.7bA1	7.1aA2	7.8aA1	5.3cA1	4.7cB2
100	6.1aA1	6.0aA1	4.5bC2	5.6aC1	4.9bA1	4.9bB1
150	6.1bA1	4.9bB2	7.5aA1	6.2aB2	4.5cB1	4.6bB1
200	5.7bA1	5.4bB1	7.3aA1	6.0aB2	4.4cB1	3.5cC2

1- Médias dos processos C/A e S/A dentro do mesmo genótipo e mesma dose de Nitrogênio, seguido pelo mesmo Número na linha pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

2- Médias dos genótipos dentro do mesmo processo e mesma dose de N, seguido da 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 das doses de N, em cada processo e no mesmo genótipo, seguido pelo mesma letra Maiúscula na coluna pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

O maior conteúdo de óleo nos grãos com a inoculação das sementes pode ter sido oriundo, segundo Bashan et al. (2004), de plantas mais saudáveis, mais produtivas, e com maior capacidade fotossintética.

Os dados corroboram com Fiori et al. (2010), que verificaram que a inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* em plantas de milho promoveram uma maior fixação de nitrogênio e um maior potencial de incrementos bioquímicos nos grãos, em relação à testemunha que não recebeu adubação nitrogenada em cobertura.

A comparação das médias dos genótipos em cada processo e em cada dose de N, revelou superioridade do Al Band., em quase todas as doses, com ou sem a inoculação das sementes, com exceção da dose de 100 kg ha⁻¹, que foi melhor o Orion (C/A). Por sua vez, o híbrido AG-1051, apresentou o pior desempenho dentre os processos e doses.

Segundo Mittelman (2006), as diferenças no teor de óleo, de um genótipo para outro, pode ser explicada em função do mesmo ser um caráter quantitativo, controlado por vários genes, ou seja, a influência do genótipo da planta mãe é apontada como o efeito predominante na determinação do conteúdo de óleo nos grãos.

O estudo comparativo das doses de N, para cada um dos genótipos e em cada um dos processos, foi realizado pelo teste de média para Orion S/A e Al Band (C/A e S/A), uma vez que não houve relação funcional entre as doses de N e esses genótipos.

Para o genótipo Orion, foi observado maior teor de óleo nas doses 50 e 100 kg ha⁻¹. Já o Al Band, a dose de 50 kg ha⁻¹ propiciou um maior conteúdo de óleo, independente

do processo. Ressalta-se, contudo, que as doses 150 e 200 kg ha⁻¹ com *Azospirillum* também resultaram em maiores teores médios de óleo.

4.3.1.2- Regressão Polinomial

A regressão polinomial do teor de óleo (%) dos genótipos Orion com inoculação (C/A) e AG-1051 (S/A), em função das doses de N, apresentou um modelo quadrático de resposta (Figura 3).

O genótipo Orion (C/A) (Figura 3a) e AG-1051 (S/A) (Figura 3c), apresentaram aumento no teor de óleo até alcançarem a máxima eficiência técnica (MET) de 6,1% e 5,1% nas doses de N que foram, respectivamente 97,0 kg ha⁻¹ e 0 kg ha⁻¹. A partir da dose que resultou na MET de cada genótipo, houve uma redução percentual de teor de óleo nos grãos.

Para o genótipo AG-1051 (C/A) (Figura 3b), o modelo cúbico foi o mais adequado para explicar a relação entre as doses de N e o teor de óleo. Neste modelo, houve aumento no teor de óleo até atingir a máxima eficiência técnica (MET) de 5,3% na dose de 66,7 kg ha⁻¹, havendo redução no teor de óleo a partir desta dose.

A partir da dose que resultou na MET de cada genótipo, a redução no teor de óleo (%) de cada genótipo ocorreu, 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).

Segundo Pedroso Neto e Rezendo (2005), em estudos realizados em Lavras-MG, (Podzólico Vermelho-Amarelo, Argiloso) e Uberaba (Latossolo Vermelho-Escuro, Franco-Arenoso) e Segundo Lima e Peluzio (2015), em trabalho realizado com a cultura da soja, em condições de baixa latitude em Palmas-TO, foi observado o efeito de doses de potássio sobre o rendimento de óleo, confirmando a essencialidade do K na síntese e transporte de óleo para os grãos.

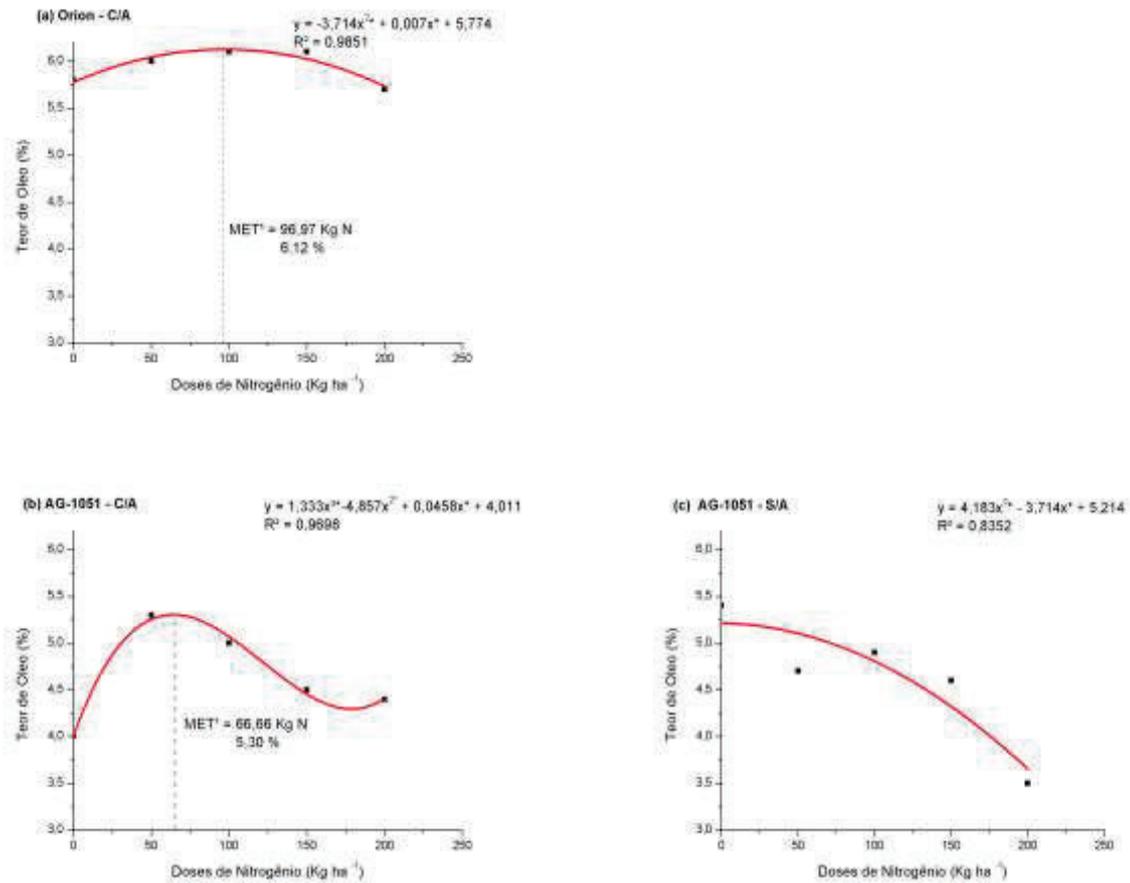


Figura 03: Média do teor de óleo (%) de genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015.

**significativo a 5% de probabilidade pelo teste t, ¹Maxima Eficiência Técnica.

4.3.2- Rendimento de óleo

4.3.2.1- Comparação de médias

Na Tabela 06, o estudo comparativo entre as médias dos processos (C/A e S/A), para cada genótipo em cada época, revelou que na primeira época de semeadura (10/07), os genótipos Al Band, e AG-1051 apresentaram maior rendimento de óleo (338 kg ha⁻¹ e 225 kg ha⁻¹, respectivamente) sem a presença do *Azospirillum* (S/A), enquanto o rendimento da variedade Orion foi similar em ambos os processos. Já na segunda época (01/08), todos os genótipos foram superiores para o rendimento de óleo em C/A.

Por outro lado, a comparação entre as épocas de semeadura, para cada genótipo e processo de inoculação, revelou um maior rendimento de óleo para os genótipos na primeira época sem a bactéria (S/A) e na segunda época com a bactéria (C/A).

Tabela 06: Médias do rendimento de óleo (Kg ha^{-1}) em duas épocas de semeadura, em três genótipos de milho, em processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015.

Genótipos milho	Época 1 (10/07)		Época 2 (01/08)	
	C/A	S/A	C/A	S/A
Orion	263aA1	265aB1	256aB1	179bA2
Al. Band.	265bA2	338aA1	321aA1	206bA2
AG-1051	175bB2	225aC1	275aB1	209aA2

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

A ausência de resposta dos genótipos à inoculação da bactéria na primeira época ocorreu, provavelmente, em função de temperaturas mais altas neste período (Figura 2), que pode ter resultado em uma diminuição da atividade da bactéria na planta. Segundo Romero-Perdomo et al. (2015), trabalhando com avaliação da temperatura e pH na atividade do *Azospirillum brasilense* na Colômbia, a faixa ideal de temperatura para a bactéria é de 22 a 30°C.

O genótipo Al Band., independente dos processos e das épocas, apresentou um maior rendimento de óleo. Por outro lado, na segunda época, não houve diferença entre os genótipos sem a bactéria.

A superioridade do Al Band., ocorreu, provavelmente, em função do maior teor de óleo deste material (Tabela 3) que pode ter refletido no rendimento de óleo, uma vez que este último foi obtido a partir do produto entre teor de óleo e produtividade de grãos.

O estudo comparativo entre os genótipos, dentro de cada época e doses de nitrogênio (Tabela 7), revelou que o Al Band, foi superior em todas as doses de N, e em ambas as épocas de semeadura, com exceção da dose de 100 kg ha^{-1} , na primeira época e da dose 50 kg ha^{-1} , na segunda época. Por outro lado, o híbrido AG-1051 apresentou, de modo geral, o pior desempenho dentre os genótipos em todas as doses e nas duas épocas.

Tabela 07: Médias do rendimento de óleo (Kg ha^{-1}) em duas épocas de semeadura, sob cinco níveis de adubação nitrogenada, em três genótipos de milho em Palmas – TO, entressafra 2015.

Nitrogênio Kg ha^{-1}	Época 1 (10/07)			Época 2 (01/08)		
	Orion	Al. Band.	AG-1051	Orion	Al. Band.	AG-1051
0	203aD1	213aC1	127bD2	177aB1	219aB1	223aB1
50	228aD2	374aA1	225bB2	210aA2	223bB2	309aA1
100	340aA1	232bC2	296aA1	226bA2	287aB1	220bB2
150	293aB2	360aA1	180bC3	242bA1	272bA1	277aA1
200	258aC2	326aB1	172aC3	234aA2	312aA1	175aC3

1- Médias dos genótipos dentro da mesma época e da mesma dose de Nitrogênio, seguido pelo mesmo Número 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) para o do mesmo genótipo e mesma dose de N, seguido pelo 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 das doses para cada genótipo e mesma época de semeadura, seguido pelo mesma letra Maiúscula na coluna pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Assim como ocorrido na Tabela 6, a superioridade do Al Band., ocorreu, provavelmente, em função do maior teor de óleo deste material (Tabela 3) que pode ter refletido no rendimento de óleo, uma vez que este último foi obtido a partir do produto entre teor de óleo e produtividade de grãos.

Estes resultados estão em concordância com aqueles obtidos por Sodré et al (2016), que verificaram diferenças entre os genótipos quanto à eficiência e resposta do uso do N aplicado em cobertura, para o rendimento de óleo, no estado do Tocantins.

Quando comparadas a primeira época com a segundo época, para cada um dos genótipos e em cada uma das doses de N, observou-se para as variedades Orion e Al Band., uma tendência de maior conteúdo de óleo, na primeira época, e do híbrido AG-1051, na segunda época. Esses resultados estão em concordância com aqueles obtidos para o teor de óleo apresentados na (Tabela 4), ou seja, o rendimento de óleo reflete os resultados obtidos para o teor de óleo.

O estudo comparativo das doses de N, para cada um dos genótipos e em cada uma das épocas, foi realizado pelo teste de média para Orion e AG-1051, na segunda época, e para Al Band, na primeira e segunda época, uma vez que não houve relação funcional entre as doses de N e os genótipos.

Os genótipos Orion e AG-1051 não apresentaram incrementos significativos no rendimento de óleo em doses superiores a 100 kg ha^{-1} . Por outro lado, Al Band., apresentou maior teor de óleo com doses mais altas de nitrogênio ou seja, a partir da dose de 150 kg ha^{-1} .

Segundo Gallais e Hirel (2004), os alelos responsáveis para o controle genético da eficiência de N são expressos de acordo com o grau de disponibilidade do mesmo.

Para Canãs et al. (2011) a resposta da planta ao N é bem complexa, ou seja controlada por vários genes/alelos que se expressam de forma diferentes nos órgãos vegetativos e reprodutivos.

4.3.2.2- Regressão Polinomial

A regressão polinomial dos genótipos Orion e AG-1051 na primeira época em função das doses de N, apresentou um modelo quadrático de resposta, conforme a Figura 4.

Orion (Figura 4a) e o AG-1051 (Figura 4b) apresentaram aumento no rendimento de óleo até alcançarem a máxima eficiência técnica (MET) de 308 kg ha⁻¹ e 257 kg ha⁻¹ que correspondeu as doses de N que foram, respectivamente, 121 kg ha⁻¹ e 103 kg ha⁻¹. A partir da dose que resultou na MET de cada genótipo, houve uma redução percentual de rendimento de óleo nos grãos.

Para esta dose que resultou na MET de cada genótipo, pode ter ocorrido uma redução no rendimento de óleo (%), 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).

Segundo Lima e Peluzio (2015), em trabalho realizado com a cultura da soja, em condições de baixa latitude em Palmas-TO, foi observado o efeito de doses de potássio sobre o rendimento de óleo, confirmando a essencialidade do K na síntese e transporte de óleo para os grãos.

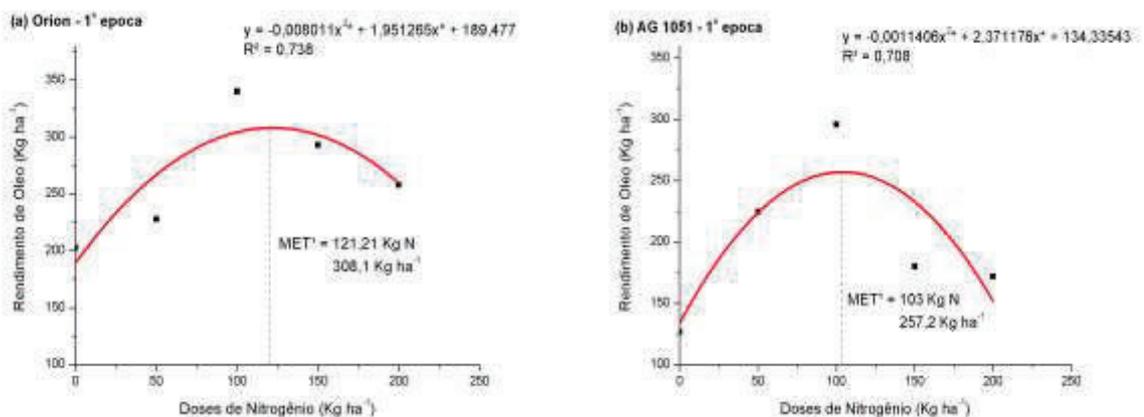


Figura 04: Média do rendimento de óleo (kg ha⁻¹) de genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada em duas épocas de semeadura, em Palmas – TO, entressafra 2015.

**significativo a 5% de probabilidade pelo teste t, ¹Máxima Eficiência Técnica.

Na Tabela 8, o estudo comparativo das médias do rendimento de óleo entre os processos (C/A e S/A), para cada genótipo e em cada dose de N, mostrou para os genótipos Orion e Al Band., para a grande maioria das doses de N, uma resposta no incremento no rendimento de óleo quando as sementes foram inoculadas com *Azospirillum*. Por outro lado, o híbrido AG-1051 não apresentou diferença significativa entre os processos para todas as doses.

Tabela 08: Médias do rendimento de óleo (Kg ha⁻¹) de três genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015.

Nitrogênio Kg ha ⁻¹	Orion		Al. Band.		AG-1051	
	C/A	S/A	C/A	S/A	C/A	S/A
0	196bC1	183aC1	250aB1	183aB2	157bC1	194aC1
50	263aB1	175bC2	314aA1	283aA1	288aA1	246aA1
100	288aA1	277aA1	213bB2	305aA1	249bB1	268aA1
150	305aA1	229bB2	326aA1	306aA1	239bB1	219bB1
200	247bB1	244aB1	356aA1	282aA2	190cC1	158bC1

1- Médias dos processos C/A e S/A dentro do mesmo genótipo e mesma dose de Nitrogênio, seguido pelo mesmo Número na linha pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

2- Médias dos genótipos dentro do mesmo processo e mesma dose de N, seguido da 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 das doses de N, em cada processo e no mesmo genótipo, seguido pelo mesma letra Maiúscula na coluna pertencem ao mesmo grupo estatístico a 5% de significância pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Provavelmente, para Orion e Al Band., o aumento no rendimento de óleo pode estar associado ao aumento na produtividade de grãos, pois, segundo Lopes et al. (2014); Barbosa et al. (2011), os valores de rendimento de óleo devem refletir os valores de produtividade de grãos, já que foram obtidos a partir do produto entre teor de óleo e produtividade de grãos.

Segundo Queiroz (2014), estudando o efeito do N e do *Azospirillum* na cultura do milho, foi observado para a massa de mil grãos que o nitrogênio quando associado ao uso da bactéria, dobrou o incremento nos grãos. Por outro lado, Repke et al. (2013), estudando o *Azospirillum* na cultura do milho, não encontraram resposta da cultura à inoculação.

Martins et al. (2013), analisando as características peso de dez espigas de milho, produção de grãos e sacas por hectare verificaram que o uso do *Azospirillum brasilense*, aplicado via foliar ou nas sementes, propiciou um maior incremento para essas características.

Corroborando com os resultados encontrados por Novakowski et al. (2011) que independente dos níveis de N utilizados obtiveram superioridade na produtividade de grãos de milho ao inocularem a cultura com o *Azospirillum brasilense*.

A comparação das médias dos genótipos em cada processo e em cada dose de N (tabela 8), revelou superioridade do Al Band, em quase todas as doses, com ou sem a inoculação das sementes, com exceção da dose de 100 kg ha⁻¹, que foi melhor o Orion (C/A). Por sua vez, o híbrido AG-1051, foi inferior em praticamente todas as doses com a bactéria e apresentou um bom rendimento de óleo apenas nas doses abaixo de 150 kg ha⁻¹

Os resultados obtidos para as variedades Al Band e Orion foram concordantes com aqueles apresentados para o teor de óleo (Tabela 5), ou seja, o rendimento de óleo reflete os resultados obtidos para o teor de óleo. Por outro lado, para o híbrido AG 1051, o aumento no rendimento de óleo pode estar associado mais ao aumento na produtividade de grãos do que no teor de óleo (tabela 5)

Lemos et al. (2013) avaliando a resposta de cinco cultivares de trigo à inoculação com *Azospirillum brasilense* e aplicação de N em cobertura maiores incrementos no grãos, mas o mesmo resultado não ocorreu isoladamente com N ou só com a bactéria. Este dado reforça a hipótese de que existe especificidade entre as estirpes de *Azospirillum* e as espécies Penot et al. (1992) ou mesma a interação de bactéria e os cultivares de planta (WANI et al., 1985).

O estudo comparativo das doses de N, para cada um dos genótipos e em cada processo, foi realizado pelo teste de média para Orion, sem a bactéria (S/A), e Al Band (C/A), com a bactéria (Tabela 8)

Para o genótipo Orion, foi observado maior rendimento de óleo na dose de 100 kg ha⁻¹. Já para Al Band, a dose de 50 kg ha⁻¹ propiciou um maior conteúdo de óleo, juntamente com as doses de 150 e 200 kg ha⁻¹.

Provavelmente, para Orion e Al Band, o aumento no rendimento de óleo pode estar associado, principalmente, ao aumento no teor de óleo (Tabela 5), já que foram obtidos a partir do produto entre teor de óleo e produtividade de grãos.

4.3.2.3- Regressão Polinomial

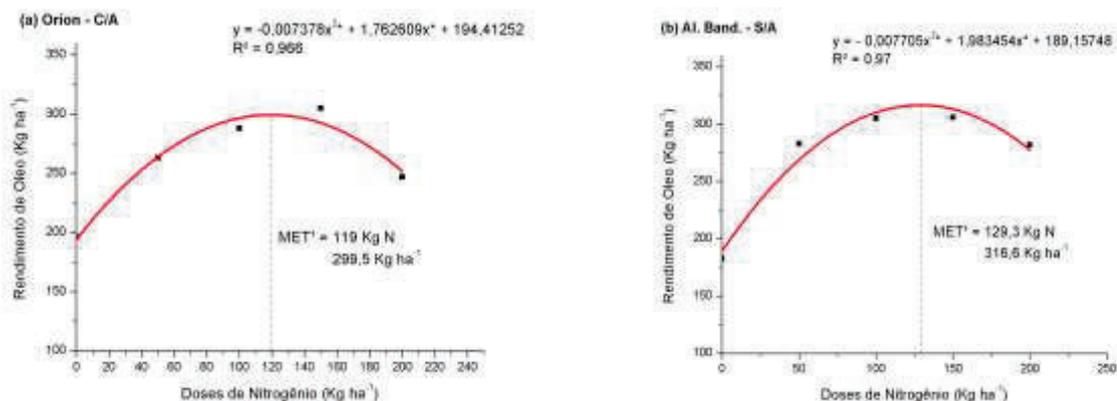
Na regressão polinomial do rendimento de óleo (kg ha⁻¹) dos genótipos Orion C/A, Al Band. S/A, e AG-1051, (C/A e S/A) em função das doses de N, apresentou um modelo quadrático de resposta, como mostra a Figura 5.

O Orion C/A, (Figura 5a) apresentaram aumento no rendimento de óleo até alcançarem a máxima eficiência técnica (MET) de 299,5 kg ha⁻¹ e 119 kg ha⁻¹ de N. Já O Al Band., (S/A), (Figura 5b) apresentou seu melhor rendimento de óleo até alcançar a MET de 316,6 kg ha⁻¹ na dose 129,3 kg ha⁻¹ de N. Enquanto que o híbrido AG-1051 (C/A e S/A), (Figura 5c e 5d), apresentou suas MET com rendimentos de óleo (272 e 260,6 kg ha⁻¹) nas doses 101 e 88,9 kg ha⁻¹ de N, respectivamente. Onde no híbrido com a bactéria foi observado um melhor resultado de óleo com uma diferença (11,40 kg ha⁻¹). A partir da dose que resultou na MET de cada genótipo, houve uma redução percentual de rendimento de óleo nos grãos.

Após atingir a dose de MET de cada genótipo, pode ter ocorrido uma redução no rendimento de óleo (%), 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).

Os resultados corroboram com Hungria et al. (2010), que encontraram incrementos de quase 30% na produção de grãos com inoculação de *Azospirillum* em milho. Como também segundo, Lima e Peluzio (2015), em trabalho realizado com a cultura da soja em condições de baixa latitude em Palmas-TO, foi observado o efeito de doses de potássio sobre o rendimento de óleo, confirmando a essencialidade do K na síntese e transporte de óleo para os grãos.

Segundo Quadros (2009), avaliando vários genótipos de milho observou que adição de 50 kg ha⁻¹ de N, promoveu significativamente incrementos nos grãos com a adição de 130 kg ha⁻¹, evidenciando que o *Azospirillum*, pode suprir parte do nitrogênio nas plantas de milho.



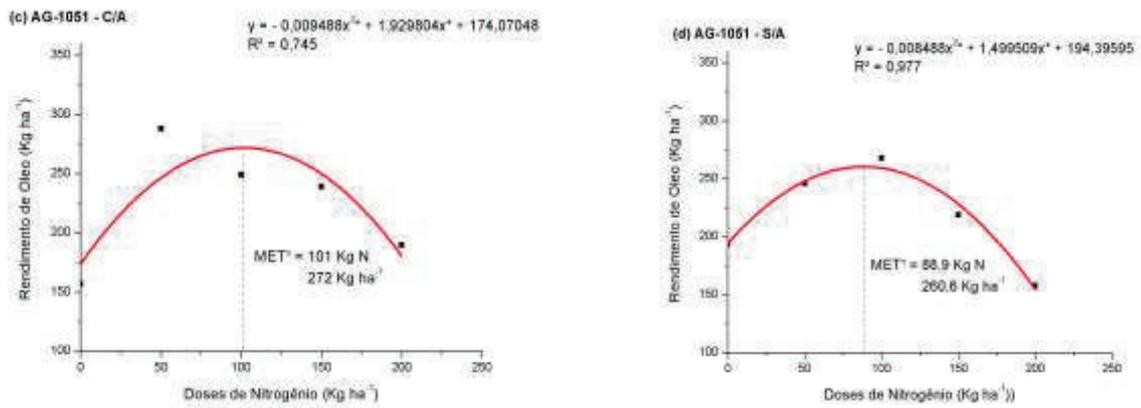


Figura 05: Média do rendimento de óleo (kg ha^{-1}) de genótipos de milho, sob cinco níveis de adubação nitrogenada e processos com e sem inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense* em Palmas – TO, entressafra 2015.

**significativo a 5% de probabilidade pelo teste t, ¹Máxima Eficiência Técnica.

5- CONCLUSÕES

O uso do *Azospirillum brasilense*, com ou sem adubação nitrogenada, promoveu aumento no teor de óleo e rendimento de óleo nos grãos de milho;

O efeito benéfico de *Azospirillum brasilense*, no teor e rendimento óleo está associado à época de semeadura e ao genótipo.

A variedade Orion apresenta maior potencial para teor e rendimento óleo e uma maior resposta ao uso do *Azospirillum brasilense*, com ou sem adubação nitrogenada.

A inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* poderá ser uma alternativa viável na redução do uso de fertilizantes nitrogenados em regiões sob baixa latitude. Entretanto, há a necessidade da realização de novos estudos.

REFERÊNCIAS

- AMARAL FILHO, J.P.R.A.; FILHO, D.F.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J.C. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, 2005.
- ANDERSON, D.A Primer on oils processing technology. In: SHAHIDI, F. (Ed.) *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. v.05. 6ta ed. New Jersey: John Wiley and Sons, 2005. Cap. 1, p.1-56.
- ANDRADE, A.C.; FONSECA, D.M. da; QUEIROZ, D.S.; SALGADO, L.T.; CECON, P. R. Adubação nitrogenada e potássica em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier). *Revista Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, Especial ed., p.1643-1651, dez. 2003.
- ARAÚJO, S.C; Realidade e perspectivas para o uso de *Azospirillum* na cultura do milho. Piracicaba: IPNI – International Plant Nutrition Institute Brazil. 32p. (IPNI. Informações Agrônomicas, 122). 2008.
- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F.; FOSTHOFER, E.L.; STRIEDER, M. L.; SUHRE, E.; TEICHMANN, L.L. Adubação nitrogenada em milho pelo monitoramento do nível de nitrogênio na planta por meio do clorofilômetro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.27, p. 109-119, 2003.
- AWIKA, Joseph M.; PIIRONEN, Vieno; BEAN, Scott. *Advances in cereal science: implications to food processing and health promotion*. 2011.
- BARASSI, C.A.; SUELDO, R.J.; CREUS, C.M.; CARROZZI, L.E.; CASANOVAS, W.M.; PEREYRA, M.A. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación. Argentina de Microbiología, 2008.
- BÁRBARO, I.M; BRANCALIÃO, S.R.; TICELLI, M. É possível a fixação biológica de nitrogênio no milho? Artigo em Hypertexto, 2008.
- BARBOSA, Nathália Cirqueira. Registro nacional de cultivares de milho no Brasil. 2016.
- BARILLI, Diandro Ricardo et al. 11724-Eficiência na inoculação do milho com *Azospirillum* brasiliense em diferentes períodos antes da semeadura. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. 2, 2011.
- BARROS NETO, C.R. de. Efeito do nitrogênio e da inoculação de sementes com *Azospirillum* brasiliense no rendimento de grãos de milho. 2008. 29p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG, Ponta Grossa, PR, 2008.
- BARTCHEN, A.; FIORI, C.C.L.; WATANABE, S.H.; GUARIDO, R.C. Efeito da inoculação de *Azospirillum* brasiliense na produtividade do milho (*Zea mays*). *Revista Campo Digit@l*, v.5, n.1, p.56-59, dez. 2010.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian Journal of Microbiology*, v.50, p.521-577, 2004.

BASHAN, Y.; PUENTE, M. E., RODRIGUEZ-MEDONZA, M. N., TOLEDO, G., HOLGUIN, G., FERRERA-CERRATO, R.; PEDRIN, S. Survival of *Azospirillum brasilense* in the bulk soil and rhizosphere of 23 soil types. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, p.1938-1945, 1995.

BASI, S.; LOPES, E.C.P.; KAMINSKI, T.H.; PIVATTO, R.A.D.; CHENG, N.C.; SANDINI, I.E. *Azospirillum brasilense* nas sementes e no sulco de semeadura da cultura do milho. In.: *Semana de Integração, Ensino, Pesquisa e Extensão, 2. Resumos... Guarapuava: Anais da II SIEPE, 2011.*

BASI, SIMONE. ASSOCIAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* E DE NITROGÊNIO EM COBERTURA NA CULTURA DO MILHO, xiii, 50 f. : il. ; 28 cm. Guarapuava, 2013.

BERGAMASCHI, Homero et al. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 39, n. 9, p. 831-839, 2004.

BESERRA, Yolanda Albertina Silva. Caracterização físico-química do farelo de milho (*Zea mays* L.) como subproduto visando seu aproveitamento na alimentação animal. 2015.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. Melhoramento de plantas. 6ª ed., Viçosa: UFV, 2013.

BORGES, Iran Dias et al. Efeito das Épocas de Aplicação da Cobertura Nitrogenada, das Fontes de Nitrogênio e dos Espaçamentos entre Fileiras na Cultura do Milho/Effect Application Time And Source Of Nitrogen Fertilizer And Of Row Spacing in the Corn Crop. *Ceres*, v. 53, n. 305, 2015.

BORIN, A. L. D. C. Extração, absorção e acúmulo de nutrientes no milho doce cultivado em condições de campo. Uberlândia, 2005.

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.

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

BUENO, L. G.; CHAVES, L. J.; OLIVEIRA, J. P. de; BRASIL, E. M.; REIS, A. J. S.; ASSUNÇÃO, A.; PEREIRA, A. F.; RAMOS, M. R. Controle genético do teor proteico nos grãos e de caracteres agronômicos em milho cultivado com diferentes níveis de adubação nitrogenada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2009.

CALDARELLI, Carlos Eduardo; BACCHI, Mirian Rumenos Piedade. Fatores de influência no preço do milho no Brasil. *Nova economia*, v. 22, n. 1, p. 141-164, 2012.

CANTARELLA, H. Calagem e adubação do milho. In: BÜLL, L.T. & CANTARELLA, H., eds. *Cultura do milho: Fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba, Potafos, 1993.

CANTARELLA, H.; DUARTE, A. P. Tabela de recomendação de adubação NPK para milho safrinha no Estado de São Paulo. **SEMINÁRIO SOBRE A CULTURA DO MILHO SAFRINHA**, v. 4, p. 65-70, 1997.

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, 2000.

CAVALLET, L. E. et al. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 2000.

CD YAMADA, T. Adubação nitrogenada do milho. Quanto, como e quando aplicar? Informações Agronômicas, Piracicaba: Potafos, 1996.

CHENG, N.C.; NOVAKOWISKI, J. H.; SANDINI, I.; DOMINGUES, L. Substituição da adubação nitrogenada de base pela inoculação com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. In.: Seminário Nacional de Milho Safrinha, 11. Anais... Lucas do Rio Verde: Fundação Rio Verde, 2011.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira de grãos: Safra 2015/2016 – Sétimo Levantamento – junho /2016. Brasília: CONAB, 2016. (<http://www.conab.gov.br/boletim>, consulta online em abril de 2016).

CORREA, O.S.; ROMERO, A.M.; SORIA, M.A.; DE ESTRADA, M. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* spp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina, 2008.

CROES, C.L.; MOENS, S.; VAN BASTELAERE, E.; VANDERLEYDEN, J.; MICHIELS, K.W. The polar flagellum mediates *Azospirillum brasilense* adsorption to wheat roots. Journal of General Microbiology, v.139, p.2261-2269, mar. 1993.

CRUZ, Ivan. Manejo de pragas na cultura de milho. FANCELLI, AL; DOURADO NETO, D.(Coords.). Tecnologia da produção de milho. Piracicaba: USP-ESALQ, 1997.

CRUZ, José Carlos et al. Manejo da cultura do milho em sistema plantio direto. Informe agropecuário, 2006.

DA SILVA, Edson Cabral et al. Aproveitamento de nitrogênio pelo milho, em razão da adubação verde, nitrogenada e fosfatada. **Pesquisa agropecuária brasileira**, 2010.

DE RESENDE, Álvaro Vilela et al. Fontes e modos de aplicação de fósforo para o milho em solo cultivado da região do cerrado. 2004.

DO MILHO, Estágios Fenológicos da Cultura; DA ESPIGA, Tamanho. Fases de Desenvolvimento da Cultura do Milho. Fenologia do milho: Adaptado de FANCELLI (1986) e Iowa State University Extension (1993).

DÖBEREINER, J. e PEDROSA, F.O. Nitrogen-fixing bacteria in non-leguminous crop plants. Science Tech, 155p., 1987. DÖBEREINER, J. Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas. In.: CARDOSO, E.J.B.N., TSAI, S.M., NEVES, M.C.P. Microbiologia do solo. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992.

DOS REIS JUNIOR, Fábio Bueno; DE TOLEDO, Cynthia Torres. Inoculação de *Azospirillum* amazonense em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, 2008.

DOS SANTOS, Weder Ferreira; AFFÉRI, Flávio Sérgio; PELUZIO, Joênes Mucci. EFICIÊNCIA AO USO DO NITROGÊNIO E BIODIVERSIDADE EM GENÓTIPOS DE MILHO PARA TEOR DE ÓLEO. *Rev. Cienc. Agrar.*, v. 57, n. 3, 2014.

DOS SANTOS, Weder Ferreira; AFFÉRI, Flávio Sérgio; PELUZIO, Joênes Mucci. EFICIÊNCIA AO USO DO NITROGÊNIO E BIODIVERSIDADE EM GENÓTIPOS DE MILHO PARA TEOR DE ÓLEO. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.21; p. 2015.

DOURADO NETO, DURVAL et al. Efeito da população de plantas e do espaçamento sobre a produtividade de milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 2, n. 03, 2010.

FANCELLI, A. L. Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes na cultura do milho. Piracicaba: IPNI - International Plant Nutrition Institute Brazil, 2010.

FANCELLI, A. L. Nutrição e adubação do milho. Piracicaba: USP, v. 43, 2000.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The state of food and agriculture. Biofuels: prospects, risks and opportunities. Roma: FAO, 2008b, 2012.

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.

FERREIRA, A. C. B. Efeitos da adubação com N, Mo, Zn sobre a produção, qualidade dos grãos e concentração de nutrientes no milho. 1997. Tese (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

FERREIRA, A. C. B.; ARAUJO, G. A. A.; PEREIRA, P. R. G.; CARDOSO, A. A.. Características agrônomicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. *Revista Scientia Agricola*, 2001.

FERREIRA, M.C.B.; FERNANDES, M.S. & DÖBEREINER, J. Role of Azospirillum brasilense nitrate reductase in nitrate assimilation by wheat plants. *Biology Fertility Soils*, v.4, p.47-53, 1987.

FORNASIERI FILHO, D. Manual da cultura do milho. Jaboticabal: Funep, 2007. FULCHIERI, M.; FRIONI, L. Azospirillum inoculation on maize (*Zea mays*): 1994.

FRANÇA, Solange et al. Nitrogênio disponível ao milho: Crescimento, absorção e rendimento de grãos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande. Vol. 15, n. 11 (nov. 2011), p. 1143-1151, 2011.**

GAI, Bruno Rafael Casarin. Avaliação do gênero Azospirillum em diferentes níveis de nitrogênio em cobertura na cultura do milho (*Zea mays* L.). 2016.

GALLAIS, A.; HIREL, B. An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *Journal of Experimental Botany*, v. 55, n. 396, p. 295-306, 2004.

GALVÃO, João Carlos Cardoso et al. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. *Ceres*, v. 61, n. 7, 2015.

GARCIA, João Carlos; MATTOSO, Marcos Joaquim; DUARTE, J. O. Importância do milho em Minas Gerais. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 2006.

GOES, RENATO JAQUETO et al. Características agronômicas e produtividade do milho sob fontes e doses de nitrogênio em cobertura no inverno. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 3, p. 250-259, 2014.

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.

HAGEMAN, R.H., LAMBERT, R.J. The use of physiological traits for corn improvement. In: SPRAGUE, G.F., DUDLEY, J.W. **Corn and corn improvement**. 3 ed. Madison : ASA/CSSA, 1988.

HALL, P.G. KRIEG N.R. Application of the indirect immunoperoxidase stain technique to the flagella of *Azospirillum brasilense*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1984.

HAN, S.O.; NEW, P.B. Variation in nitrogen fixing ability among natural isolates of *Azospirillum*. *Microbial Ecology*, New York, v. 36, n.2, p. 193-201, 1998.

<http://www.focoagro.com.br/noticias/47-entenda-o-que-e-entressafra.html> (consulta, online em setembro de 2016).

<http://www.milhao.net/milhao/index.php/en/articles/item/valor-nutricional-do-germix-germen-de-milho-a-riqueza-do-milho>. Consulta realizada em maio de 2016.

HUNGRIA, Mariangela et al. A inoculação com estirpes seleccionadas de *Azospirillum brasilense* e *A. lipoferum* melhora rendimentos de milho e trigo no Brasil. **Planta e do solo**, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, Mariangela. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Embrapa Soja, 2011.

INTERAGENCY AGRICULTURAL PROJECTIONS COMMITTEE et al. USDA Agricultural Projections to 2016.

KAMINSKI, T.H.; NOVAKOWISKI, J.H.; BASI, S.; LOPES, E.C.P.; CHENG, N.C.; SANDINI, I.E. Desempenho de diferentes híbridos de milho submetidos à inoculação de *Azospirillum brasilense*. In.: Semana de Integração, Ensino, Pesquisa e Extensão, 2. Resumos... Guarapuava: Anais da SIEPE, 2011.

KAPPES, C.; CARVALHO, M.A.C.; YAMASHITA, O.M.; SILVA, J.A.N. Influência do nitrogênio no desempenho produtivo do milho cultivado na segunda safra em sucessão à soja. *Revista Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, 2009.

LAMBERT, R. J.; ALEXANDER, D. E.; MEJAYA, I. J. Single Kernel Selection for Increased Grain Oil in Maize Synthetics and High-Oil Hybrid Development. **Plant Breeding Reviews**, Volume 24, Part 1: Long-term Selection: Maize, v. 64, p. 153, 2010.

LANA, M.C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J.E. Inoculation with *Azospirillum*, 47 associated with nitrogen fertilization in maize. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 59, n. 3, p. 399- 405, mai/jun, 2012.

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.

LUIZ, Giovani Luiz Thomaz; Jeferson Zagonel; NOGUEIRAI, Osvaldo Colasante Ranieri Ramos. Produção do girassol e teor de óleo nas sementes em diferentes épocas de semeadura no Centro-Sul do Paraná. **Ciência Rural**, 2012.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Fisiologia da produção de milho. **Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica**, 2006.

MALAVOLTA, E. et al. Manual de nutrição de plantas. **São Paulo: Agronômica Ceres**, p. 638, 2006.

MENEGALDO, J. G. A importância do milho na vida das pessoas. 2011.

MILLER, R. L.; DUDLEY, J. W.; ALEXANDER, D. E. High intensity selection for percent oil in corn. **Crop Science**, v. 21, n. 3, p. 433-437, 1981.

MITTELMANN, Andréa et al. Análise dialélica do teor de óleo em milho. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 12, n. 2, 2014.

NEHL, D.B.; ALLEM, S.J.; BROWN, J.F. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. *Applied Soil Ecology*, v.5, p.1-20, 1996.

ODERICH, E. H. Desempenho e potencial agrônomo da produção de etanol em microdestilarias em pequenas propriedades da região noroeste do Rio Grande Do Sul. 2013.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate 48 plants. *Applied and Environment Microbiology*, Washington, v.6, n.7, p.366-370, 1997. PEDRINHO, E.A.N. Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento em milho (*Zea mays* L.). 2009.

OKUMURA, Ricardo Shigueru; DE CINQUE MARIANO, Daiane; ZACCHEO, Paulo Vicente Contador. Use of nitrogen fertilizer in corn: bUso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão/b. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, 2011.

OLIVEIRA JUNIOR, L. F. G.; DELIZA, R.; BRESSAN-SMITH, R.; PEREIRA, M. G.; CHIQUIERE, T. B. Seleção de genótipos de milho mais promissores para o consumo in natura. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 26(1):159- 165, 2006.

OLIVEIRA, A. L. M.; CANUTO, E. L.; SILVA, E. E.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I. Survival of nodophytic diazotrophic bacteria in soil under different moisture levels. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.35, n.4, p. 295-299, Oct./Dec. 2004.

OLIVEIRA, Andréia Mara Rotta et al. Characterization of the spacer region 16-23S rDNA for differentiation of strains of rhizobia used in the production of commercial inoculants in Brazil. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1423-1429, 2012.

PAES, Maria Cristina Dias. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

PAIVA, CTC. Cultivo de milho em plantio direto e convencional com diferentes doses de adubação nitrogenada em cobertura. 2011.

POMPELLI, Marcelo Francisco et al. Crise energética mundial e o papel do Brasil na problemática de biocombustíveis. **Agronomia Colombiana**, v. 29, n. 2, p. 231-240, 2011.

QUADROS, P. D. Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul. 2009.

QUEIROZ, Isabel Dayane de Sousa et al. Implicações da inoculação com *Azospirillum* brasileiro e de níveis de N em milho transgênico no cerrado. 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.

RAMBO, Lisandro et al. Monitoramento do nitrogênio na planta e no solo para predição da adubação nitrogenada em milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 42, p. 407-417, 2007.

REIS Jr., F.B.; REIS, V.M.; SILVA, L.G. & DÖBEREINER, J. Levantamento e quantificação de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.35, p.985-994, 2000.

REPKE, R.A.; CRUZ, S.J.S.; SILVA, C.J.; FIGUEIREDO, G.P. e BICUDO, S.J. Avaliação da Eficiência da *Azospirillum brasilense* Combinada com doses de Nitrogênio no Desenvolvimento da Cultura do Milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, V.12 nº. 03, 2013.

RIBEIRO, Antonio Carlos. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação.** Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais, 1999.

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J.; BENSON, G.O. Como a planta de milho se desenvolve. Piracicaba: Potafos, 2003.

ROBERTO, Vitor Mateus Oliveira; SILVA, C. D.; LOBATO, Paula Notini. Resposta da cultura do milho a aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente. In: **Anais do XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo**. 2010.

ROMERO-PERDOMO, F. et al. Effect of temperature and pH on the biomass production of *Azospirillum brasilense* C16 isolated from Guinea grass. **Pastures and Forages**, v. 8, n. 3, 2015.

ROSCOE, Renato; MIRANDA, Renata de Azambuja Silva. Fixação Biológica de Nitrogênio e Promoção de Crescimento em Milho Safrinha. **Tecnologia e produção: milho safrinha e culturas de inverno**, p. 38-44, 2013.

RUSCHEL, Renato; BAUMAN, Loyal F. Seleção para alto teor de óleo no grão numa população de milho opaco-2. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 8, n. 8, p. 239-244, 1973.

SALA, V.M.R.; CARDOSO, E.J.B.N.; FREITAS, J.G.; SILVEIRA, A.P.D. da. Novas bactérias diazotróficas endofíticas na cultura do trigo em interação com a adubação nitrogenada, no campo. *Biologia do Solo*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa. v.32, n.3, mai./jun. 2008.

SANDINI, I.; NOVAKOWISKI, H.J. Uso de inoculantes em milho safrinha. In.: XI Seminário Nacional de Milho Safrinha. Anais... Lucas do Rio Verde: Anais do XI Seminário Nacional de Milho Safrinha, Fundação Rio Verde, 2011.

SANGOI, Luís et al. Desempenho Agronômico Do milho em razão do Tratamento de sementes com *Azospirillum* sp. e da Aplicação De Doses De nitrogênio mineral. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 4, p. 1141-1150, 2015.

SANTOS, K.C.; NOVAKOWISKI, J.H.; BAZZANEZI, A.N.; NOVAKOWISKI, J.H.; PECENTCHUK, F.; SANDINI, I.E. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* sobre a produtividade e massa de mil grãos de diferentes híbridos de milho. In.: Semana de Integração, Ensino, Pesquisa e Extensão, 2. Resumos... Guarapuava: Anais da SIEPE, 2011.

SANTOS, W.F.; PELUZIO, J.M.; SODRÉ, L.F.; AFFÉRI, F.S.; OLIVEIRA, K.J.C.; ARAUJO, L.L. 2015. Épocas de semeadura, doses de nitrogênio e rendimentos de óleo em populações de milho. Revista de Agricultura v.91, n.2, p. 174 - 183, 2016.

SILVA A. G., DUARTE P. A., PIEDADE R. C., COSTA H. P., MEIRELES K. G. C. Inoculação de sementes com *Azospirillum* e nitrogênio em cobertura no milho safrinha. 2013. In: XII Seminário Nacional Milho Safrinha, 2013.

SIQUEIRA, J.O., FRANCO, A.A. Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas. Brasília: MEC Ministério da Educação, ABEAS, Lavras: ESAL, FAEPE, 1988.

SOARES, M.A. Influência de nitrogênio, zinco e boro e de suas respectivas interações no desempenho da cultura de milho (*Zea mays* L.). Piracicaba. Dissertação de Mestrado. ESALQ, 92p. 2003.

SOUZA, E. F. C.; SORATTO, R. P. Efeito de fontes e doses de nitrogênio em cobertura, no milho safrinha, em plantio direto. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, Sete Lagoas, 2006.

SOUZA, L.C.F.; GONÇALVES, M.C.; ALVES SOBRINHO, T.; FEDATTO, E.; ZANON, G.D.; HASEGAWA, E.K.B. Culturas antecessoras e adubação nitrogenada na produtividade de milho em plantio direto irrigado. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.2, n.3, p. 55-62, 50 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Nutrição Mineral. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.96-101. TOLLENAAR, M. Is low plant density a stress in maize? Maydica, 1992.

YAMADA, Tsuioshi; ABDALLA, S. R. S. Como melhorar a eficiência da adubação nitrogenada do milho?. **biológica**, v. 25, p. 30, 2000.