

INSTITUTO FEDERAL DE SANTA CATARINA
CÂMPUS SÃO MIGUEL DO OESTE
AGRONOMIA

Thaiane Caroline Mezzalira

**EFETIVIDADE DE *Azospirillum brasilense* ASSOCIADA A DOSES DE
NITROGÊNIO NO CRESCIMENTO, DESENVOLVIMENTO E
PRODUTIVIDADE DA AVEIA-PRETA**

São Miguel do Oeste – SC (2022)

Thaiane Caroline Mezzalira

**EFETIVIDADE DE *Azospirillum brasilense* ASSOCIADA A DOSES DE NITROGÊNIO
NO CRESCIMENTO, DESENVOLVIMENTO E PRODUTIVIDADE DA AVEIA-
PRETA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Bacharelado em Agronomia do
Campus São Miguel do Oeste do Instituto
Federal de Santa Catarina como requisito
parcial à obtenção do título de **Engenheira
Agrônoma**

Orientador

Prof. Dr. Odimar Zanuzo Zanardi

Co-orientadora

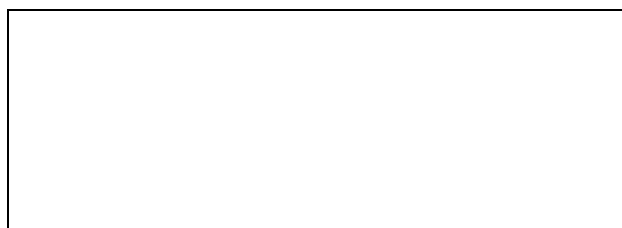
Prof^a Dra. Aquidauana Miqueloto Zanardi

São Miguel do Oeste

Thaiane Caroline Mezzalira

**EFETIVIDADE DE *Azospirillum brasilense* ASSOCIADA A DOSES DE
NITROGÊNIO NO CRESCIMENTO, DESENVOLVIMENTO E
PRODUTIVIDADE DA AVEIA-PRETA**

Este trabalho foi aprovado pela Banca examinadora composta por Odimar Zanuzo Zanardi, Priscila Flôres Aguirre e Douglas Antonio Rogeri na data 21/08/2023, cujas notas e assinaturas constam em Ata de Defesa. Por fim, as considerações propostas pela Banca foram incorporadas no trabalho, estando esse apto para arquivamento.



Prof. Dr. Odimar Zanuzo Zanardi

Instituto Federal Santa Catarina - Câmpus São Miguel do Oeste

RESUMO

A aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb.) é uma cultura que apresenta grande importância socioeconômica e versatilidade, sendo utilizada tanto na produção de palha para cobertura/proteção do solo e rotação de culturas quanto na elaboração de produtos para alimentação animal (forragem, feno, silagem, ração) e humana (farinhas, produtos matinais etc.). Todavia, a produção de fitomassa dessa cultura depende não somente das condições edafoclimáticas do local, mas também da densidade de semeadura, do arranjo de plantas, do sistema de produção, do manejo de pragas e doenças e, principalmente, da fertilização nitrogenada disponibilizada à cultura. Por isso, o uso de microrganismos fixadores de nitrogênio atmosférico e promotores de crescimento, como as bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* spp., pode ser uma alternativa importante para aumentar o suprimento deste macronutriente e melhorar a produtividade da cultura. Assim, objetivou-se com este estudo avaliar a efetividade da inoculação de *A. brasilense* cepas AbV5 e AbV6 (100 mL de agFX – Azo2 2×10^8 células viáveis $\text{mL}^{-1} \text{ha}^{-1}$) isoladamente ou em associação com diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg N ha^{-1}) nos atributos morfológicos, fenológicos, fisiológicos e produtivos da aveia-preta cultivar IPR 61. Os resultados mostraram que a inoculação das cepas AbV5 e AbV6 de *A. brasilense* em sementes de aveia-preta alterou os atributos morfológicos, fenológicos, fisiológicos e produtivos da cultura, sendo os níveis de resposta dependentes das doses de nitrogênio utilizadas no momento da semeadura. A inoculação da bactéria não alterou o número de perfilhos nas plantas, mas o aumento nas doses de nitrogênio induziu a produção de perfilhos na cultura. A inoculação de *A. brasilense* associado a 50 kg N ha^{-1} aumentou a altura de planta, o diâmetro de colmo, o volume de raízes, as massas fresca e seca de raízes e da parte aérea, o crescimento/desenvolvimento, o conteúdo de clorofilas *a* e *total*, a proteína bruta, as massas fresca e seca e a produtividade de grãos da cultura quando comparado a inoculação da bactéria sem adição de fertilizante nitrogenado exógeno. No entanto, incrementos positivos foram observados nos atributos morfológicos, fenológicos, fisiológicos e produtivos da aveia-preta cultivada com 100 e 140 kg N ha^{-1} , independentemente da inoculação de *A. brasilense*. Portanto, a inoculação de *A. brasilense* associado a 50 kg N ha^{-1} proporciona maior crescimento, desenvolvimento e produtividade da aveia-preta IPR 61, diminui a demanda de fertilizantes nitrogenados exógenos e contribui para a sustentabilidade dos sistemas de produção da cultura.

Palavras-chave: bactéria diazotrófica, fixação biológica de nitrogênio, promoção do crescimento.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Teores de nutrientes/minerais no solo ¹ (substrato) utilizado para a realização dos experimentos em ambiente protegido e campo conforme Tedesco et al. (1995).....	16
TABELA 2 - Efetividade da bactéria diazotrófica <i>Azospirillum brasilense</i> associada a diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg N ha ⁻¹) no desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea de plantas de aveia-preta cultivar IPR 61 cultivadas em ambiente protegido.....	22
TABELA 3 - Atividade de <i>Azospirillum brasilense</i> associada a diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg N ha ⁻¹) no desenvolvimento fenológico da aveia-preta cultivar IPR 61 cultivadas em ambiente protegido.....	23
TABELA 4 - Ação da bactéria diazotrófica <i>Azospirillum brasilense</i> associada a diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg N ha ⁻¹) na concentração de clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> e <i>total</i> e no teor de proteína bruta em folhas bandeiras de aveia-preta.....	26
TABELA 5 - Ação da bactéria diazotrófica <i>Azospirillum brasilense</i> associada a diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg N ha ⁻¹) na produção de massas fresca e seca e na produtividade de grãos da cultura da aveia-preta.....	26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. OBJETIVOS	7
2.1. Objetivo geral.....	7
2.2. Objetivos específicos.....	8
3. REVISÃO DE LITERATURA	8
3.1. Importância socioeconômica da cultura da aveia.....	8
3.2. Botânica, morfologia e aplicações da cultura da aveia.....	9
3.3. Fixação biológica de nitrogênio (FBN)	11
3.4. Bactérias diazotróficas associativas como agentes de fixação biológica de nitrogênio e de promoção do crescimento de plantas	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1. Local.....	15
4.2. Tratamentos e unidades experimentais	15
4.3. Semeadura da aveia-preta	16
4.4. Avaliação morfofenológica das plantas de aveia-preta.....	17
4.5. Avaliações fisiológicas da aveia-preta.....	18
4.5.1. Determinação das concentrações de clorofilas a, b e total nas folhas de aveia-preta..	18
4.5.2. Determinação do teor de proteína bruta nas folhas de aveia-preta	19
4.6. Determinação da produtividade de biomassa e de grãos da aveia-preta cultivadas em campo.....	20
4.7. Delineamento experimental e análise dos dados.....	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6. CONCLUSÕES	30
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1. INTRODUÇÃO

A cultura da aveia (*Avena* spp.) (Poales: Poaceae) desempenha papel importante na socioeconomia do Brasil, devido a sua grande capacidade de produção de biomassa e flexibilidade de uso tanto na alimentação animal quanto humana (DANIELOWSKI et al., 2021; WORDELL-FILHO; CHIARADIA, 2016). Na safra 2021/2022, o Brasil produziu 1,19 milhão de toneladas de grãos de aveia em uma área de 497,70 mil hectares (CONAB, 2023), tornando o sexto maior produtor mundial do cereal (ATLASBIG, 2022).

No Brasil, o cultivo da aveia tem sido realizado basicamente nos estados das regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul, onde as condições edáficas e climáticas são mais favoráveis para o desenvolvimento e produção da cultura. Dentro das macrorregiões produtoras, o cultivo da aveia está concentrado nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná, mas Santa Catarina, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Goiás também contribuem significativamente com a produção nacional (DANIELOWSKI et al., 2021). Nesses estados, a aveia é uma importante alternativa para a diversificação de culturas nas propriedades, consolidação dos sistemas de rotação de culturas e produção de biomassa (palha para proteção do solo, forragem verde, feno, pré-secado, silagem e grãos) durante o inverno. Além disso, a aveia também viabiliza a adoção do sistema de semeadura/plantio direto, pois as cultivares atualmente disponíveis no mercado possuem alta capacidade de produção de biomassa de baixa velocidade de decomposição (alta relação carbono/nitrogênio – C/N), quando comparado às leguminosas utilizadas para essa finalidade (DANIELOWSKI et al., 2021).

Apesar da grande importância socioeconômica da aveia para o agronegócio brasileiro e dos crescentes avanços tecnológicos alcançados nos últimos anos em termos de produtividade e capacidade de adaptação das espécies/cultivares aos diferentes agroecossistemas, alguns fatores podem limitar/diminuir o crescimento, o desenvolvimento e/ou a produtividade da cultura. Dentre os fatores que afetam o desempenho biológico, ecológico e agrônomico da cultura, alterações metabólicas das plantas, variações climáticas, tipos de solo, umidade e temperatura do ar e do solo, densidade de semeadura, sistemas de produção e manejos nutricionais e fitossanitários tem sido os mais relevantes nos sistemas de produção de aveia. Com relação ao manejo nutricional, a cultura da aveia é altamente dependente de nitrogênio, um dos macronutrientes que faz parte da composição de biomoléculas importantes como adenosina trifosfato (ATP), clorofila, proteínas e enzimas nas plantas (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000). Todavia, este macronutriente está presente em concentrações bastante variáveis nos diferentes tipos e sistemas de manejo dos solos/atmosfera, mas nem sempre está

prontamente disponível para ser utilizado pelas plantas. De acordo com Rezende et al. (2018) parte do nitrogênio presente no solo é perdido por lixiviação do nitrato, volatilização da amônia, desnitrificação, escoamento superficial e imobilização microbiana. Além disso, o nitrogênio atmosférico está numa forma quimicamente estável e não pode ser assimilado pela maioria dos seres vivos que utilizam este nutriente para síntese de metabólitos e compostos nitrogenados (MARIN et al., 1999; CABEZAS et al., 2000).

Neste sentido, a inoculação/coinoculação e/ou utilização de microrganismos promotores de crescimento tem sido uma estratégia importante para aumentar a disponibilidade de nitrogênio e estimular o crescimento das plantas cultivadas (BOLETA et al., 2020). Entre os microrganismos que atuam como promotores de crescimento e fixadores de nitrogênio atmosférico em plantas da família Poaceae destacam-se as bactérias diazotróficas pertencentes ao gênero *Azospirillum* spp. (Rhodospirillales: Azospirillaceae) (FUKAMI et al., 2018a; RAFFI; CHARYULU, 2021). Dentro deste gênero, a espécie *A. brasilense* Tarrand, Krieg & Döbereiner tem proporcionado aumento no crescimento de plantas por uma série de mecanismos, incluindo a síntese e secreção de hormônios que aumentam o crescimento radicular (PANKIEVICZ et al., 2015), maior acúmulo e disponibilidade de nutrientes (GALINDO et al., 2016; ROSA et al., 2020), tolerância a estresses abióticos (seca e salinidade), vigor da planta (FORNI et al., 2017), teor de clorofila, condutância estomática (BULEGON et al., 2017) e produtividade de grãos em diferentes espécies vegetais (GALINDO et al., 2019a). Apesar da grande contribuição deste microrganismo no crescimento e na disponibilização de nitrogênio para plantas de soja (CÂNDIDO et al., 2022), arroz (SILVA et al., 2023), milho (BOLETA et al., 2020; GALINDO et al., 2020), cevada (LADE et al., 2018) e trigo (LUDWIG et al., 2022), poucos estudos têm sido realizado para verificar a efetividade dessa bactéria no crescimento, desenvolvimento e produtividade da aveia-preta (BRUN et al., 2021) nas condições edafoclimáticas do Extremo-Oeste Catarinense.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a efetividade da inoculação das cepas AbV5 e AbV6 de *A. brasilense* isoladamente ou em associação com diferentes doses de nitrogênio no crescimento, desenvolvimento e produtividade da aveia-preta cultivar IPR 61.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar, em ambiente protegido, a influência da inoculação de *A. brasilense* associada a diferentes doses de nitrogênio no crescimento e desenvolvimento radicular e da parte aérea das plantas de aveia-preta;
- Avaliar, em laboratório, a influência da inoculação de *A. brasilense* associada a diferentes doses de nitrogênio nas concentrações de clorofilas *a*, *b* e *total* das plantas de aveia-preta cultivadas em campo;
- Determinar, em laboratório, a influência da inoculação de *A. brasilense* associada a diferentes doses de nitrogênio no teor de proteína bruta da lâmina foliar da aveia-preta cultivadas em campo;
- Determinar, em campo, a influência da inoculação de *A. brasilense* associada a diferentes doses de nitrogênio na produtividade de biomassa e de grãos da aveia-preta.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Importância socioeconômica da cultura da aveia

A aveia pertence a ordem Poales, família Poaceae e é uma das principais espécies de cereais de inverno cultivados no mundo. Na safra 2021/2022 foram produzidos 22,73 milhões de toneladas de grãos de aveia em uma área de 9,63 milhões de hectares, sendo uma cultura de importância socioeconômica superior ao triticale e centeio (USDA, 2023). No mundo, a aveia é considerada a sétima cereal mais produzido ficando atrás apenas do milho, trigo, arroz, cevada, sorgo e milheto (FAOSTAT, 2021). No Brasil, a aveia exerce papel importante na produção de biomassa (cobertura verde de solo, rotação de culturas e produção de palhada para viabilização do uso do sistema de semeadura/plantio direto) e na elaboração de produtos para alimentação animal (forragem, feno, silagem, rações) e humana (DANIELOWSKI et al., 2021; WORDELL-FILHO; CHIARADIA, 2016). De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), na safra 2021/2022, o Brasil produziu 1,19 milhão de toneladas de grãos de aveia em uma área de 497,70 mil hectares (CONAB, 2023).

Em Santa Catarina, na safra 2022/2023, a produção de aveia foi de aproximadamente 57 mil toneladas em uma área de 39,94 mil hectares (EPAGRI/CEPA, 2023). Conforme o Centro de Socioeconomia e Planejamento Agrícola da Epagri (EPAGRI/CEPA), o cultivo deste cereal no Estado vem aumentando consideravelmente nos últimos anos devido à cultura ser

uma alternativa técnica e economicamente viável aos produtores no período de inverno/primavera. Em Santa Catarina, o cultivo da aveia está voltado basicamente para a produção de forragem de inverno (tanto para pastejo direto quanto para elaboração de feno, pré-secado e silagem para alimentação animal), cobertura de solo e adubação verde com vistas à implantação de culturas de verão em sucessão (DANIELOWSKI et al., 2021).

3.2. Botânica, morfologia e aplicações da cultura da aveia

Atualmente, quatro espécies de aveias são cultivadas no Brasil, sendo duas hexaploides e duas diploides. As aveias hexaploides são conhecidas como aveia-branca (*Avena sativa* L.), utilizada, principalmente, para a produção de grãos e forragem, e a aveia-amarela (*Avena byzantina* K. Koch) cultivada basicamente para a produção de forragem e, eventualmente, como planta de cobertura do solo. As espécies de aveias diploides são popularmente conhecidas como aveias-pretas (*Avena strigosa* Schreb. e *Avena brevis* Roth), ambas utilizadas para a cobertura de solo e produção de forragem. Tanto as espécies de aveias hexaploides quanto as diploides apresentam incompatibilidade interespecífica, uma vez que as aveias hexaploides possuem 42 cromossomos e as diploides apenas 14 cromossomos (DANIELOWSKI et al., 2021).

Entre as espécies de aveia cultivadas no Brasil, a aveia-preta (*A. strigosa*) tem sido a mais utilizada pelos produtores (DANIELOWSKI et al., 2021). A aveia-preta é uma espécie anual de inverno com diferentes níveis de ploidia, monoica, monoclina, autógama, de metabolismo C₃ que apresenta tolerância a curtos períodos de déficit hídrico e de altas temperaturas, de crescimento rápido, rústica, pouco exigente em relação aos tipos de solo, alta capacidade de perfilhamento, produção de biomassa e de resposta a adubação nitrogenada, fosfatada e potássica (CORREA-FILHO et al., 2017). Morfologicamente a aveia-preta caracteriza-se por apresentar raízes seminais (atividade temporária) e permanentes (FLOSS, 2011), folhas com bainha, lígula obtusa e margem denticulada, sem aurículas, colmos cilíndricos, eretos e glabros, composto por nós compactos e entrenós ocos. A inflorescência da aveia-preta é uma panícula composta por espiguetas com glumas levemente aristadas, onde estão alocados os frutos (cariopses), semicilíndricos e agudos nas extremidades (FONTANELI et al., 2012). Durante o desenvolvimento, a cultura da aveia-preta passa por diferentes estágios de crescimento vegetativo (germinação/emergência, perfilhamento e alongamento do colmo) e reprodutivos (emborrachamento, espigamento, antese, enchimento de grãos e maturação), que podem ser direto ou indiretamente influenciados pelos fatores edafoclimáticos, nutricionais e de manejo da cultura (LARGE, 1954; BASSO; TRAVI, 2021).

No Brasil, o cultivo da aveia-preta é realizado do Sul do Rio Grande do Sul (ultrapassando a latitude de 32° S) até o norte de Goiás (latitude de aproximadamente 14° S) (SIDRA, 2023). Contudo, o cultivo deste cereal está concentrado nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná, mas Santa Catarina, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Goiás também contribuem significativamente com a produção nacional. Nesses estados, a aveia-preta constitui uma importante alternativa para a diversificação da exploração agrícola, geração de renda no período de inverno/primavera, viabilização dos programas de rotação/sucessão de culturas e de sustentabilidade do sistema de semeadura/plantio direto na palha das propriedades agrícolas (DONEDA et al., 2012). Além disso, a aveia pode ser utilizada como matéria-prima de produtos e subprodutos destinados a alimentação humana, formação de pastagens de inverno para pastejo direto dos animais e/ou elaboração de alimento conservado (feno, pré-secado ou silagem), cobertura de solo e adubação verde e matéria-prima para indústria de cosméticos e produtos farmacêuticos (DE MORI, 2012; JOCHIMS et al., 2017; DANIELOWSKI et al., 2021). O cultivo da aveia-preta também contribui para o fortalecimento dos sistemas de integração lavoura-pecuária (MATTEI et al., 2020) que estão em constante expansão no Brasil.

Este modelo de produção (integração lavoura-pecuária) proporciona maior sustentabilidade do setor produtivo (KUNRATH et al., 2014), além de melhorar a qualidade do solo pelo acúmulo de matéria orgânica, proporcionar maior ciclagem de nutrientes e agregação do solo (SOUZA et al., 2010), promover o uso mais eficiente dos fertilizantes, interromper o ciclo biológico de algumas doenças, pragas e plantas daninhas e diminuir os custos de produção dos cultivos subsequentes (BRUM et al., 2021). Na ciclagem, os nutrientes são extraídos, muitas vezes, das camadas mais profundas do solo pelo sistema radicular das plantas e, disponibilizado nas camadas superficiais do solo após o senescência da parte aérea das plantas e decomposição dos resíduos vegetais pelos microrganismos (MELO et al., 2011). Além da ciclagem de nutrientes, a aveia-preta pode ter associação com microrganismos que contribuem para a promoção do crescimento e/ou fixação de nitrogênio para as plantas. Neste contexto, a associação da aveia-preta com rizobactérias pode aumentar a capacidade de produção de fitormônios (principalmente auxinas, giberelinas e citocininas) que estimulam o crescimento radicular das plantas, contribuindo para a maior adaptabilidade das plantas aos diferentes agroecossistemas, aumento na absorção de água e minerais (VACHERON et al., 2013), redução nos custos de produção e incremento na produtividade das culturas (FILGUEIRAS; MENESES, 2015).

3.3. Fixação biológica de nitrogênio (FBN)

O nitrogênio (N) é um dos principais macronutrientes requeridos pelas plantas de aveia-preta (GALINDO et al., 2020; DANIELOWSKI et al., 2021). Este macronutriente participa na composição de aminoácidos, formação de proteínas, vitaminas, carboidratos, ácidos nucleicos, enzimas, clorofilas, fotossíntese, membranas e hormônios vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2010). O N é um macronutriente altamente móvel nas plantas e, por isso, os sintomas de deficiências são inicialmente detectados pela formação de uma clorose amarela-esverdeada do ápice em direção a nervura principal das folhas velhas das plantas, redução no crescimento radicular e da parte aérea, redução no número e na densidade dos grãos formados e, conseqüentemente, redução na produtividade das culturas (REZENDE; SHIRATSUCHI, 2016).

O N na forma elementar (N_2) é um gás inerte correspondente à 79% da atmosfera terrestre. Entretanto, apenas 0,04% do N está na forma combinada orgânica ou inorgânica, presente no solo, em plantas ou em animais. Seu ciclo consiste em transformações das suas formas por meio de processos físicos, químicos ou biológicos (KÖRSCHENS et al., 2013). Em sua forma mais abundante na atmosfera, o N possui uma ligação química muito forte e estável, não estando disponível para ser diretamente usado pelas plantas. Por isso, o N_2 precisa ser processado e reduzido a nitrato (NO_3^-) ou amônio (NH_4^+) antes de ser absorvido e utilizado pelas plantas (MALAVOLTA, 2006; SOUZA; FERNANDES, 2006). A quebra da tripla ligação do N_2 pode ser realizada pela queima industrial (processo altamente energético e oneroso pelo qual o nutriente é obtido), atividades vulcânicas (pouco abundante e inviável para a agronomia), descargas elétricas (LORENZ, 2008), mineralização da matéria orgânica e ação de microrganismos fixadores de N (fungos e bactérias), que possuem enzimas capazes de fazer esse processo. Após, o N reage com o oxigênio ou hidrogênio formando NO_3^- ou NH_4^+ , tornando disponíveis para serem absorvidos e utilizados pelas plantas (NUNES et al., 2003).

Dos processos de adição do N atmosférico à biosfera, a fixação biológica de N (FBN) tem sido a principal forma de incorporação deste macronutriente nos ecossistemas. Em termos agronômicos, a maior contribuição do processo de FBN ocorre pela associação simbiótica entre plantas da família Fabaceae e microrganismos fixadores de N atmosférico (HUNGRIA, 2011). Essa associação simbiótica pode ser facilmente observada nas raízes de leguminosas pela formação de nódulos, que são estruturas especializadas no processo de fixação biológica do N (MELO, 2014).

O processo da FBN é realizado por microrganismos procariotos, que apresentam a enzima nitrogenase funcional, um complexo enzimático redox ativo, composta por dois

componentes proteicos: o componente I (molibdênio-ferro-proteína ou dinitrogenase) e o componente II (ferro-proteína ou dinitrogenase redutase), que hidrolisa ATPs para efetuar a redução do N₂ para formas que possam ser assimiladas pelas plantas. A FBN é um processo que transfere oito elétrons e hidrolisa 16 ATPs por molécula de N₂ fixado, sendo um dos processos metabólicos de maior gasto energético para as células (REIS et al., 2006). Na natureza existem diversos gêneros e espécies de microrganismos que são capazes de realizar a FBN, como as bactérias simbióticas dos gêneros *Rhizobium* spp. e *Bradyrhizobium* spp., que são capazes de formar nódulos nas plantas (MILANI et al., 2008), além das bactérias associativas que formam simbioses superficiais aos tecidos radiculares (SANTI et al., 2013) e as bactérias diazotróficas endofíticas que colonizam os tecidos internos das plantas (REIS et al., 2006; ROESCH et al., 2007).

As bactérias diazotróficas possuem a capacidade de fazer a FBN devido a presença do complexo enzimático nitrogenase, uma metaloenzima que acelera o processo de conversão do N₂ a NH₃ na temperatura e pressão ambiente, utilizando-se de energia celular na forma de ATP (REIS et al., 2006; HOFFMAN et al., 2009). Portanto, o sistema radicular que tinha como funções básicas a absorção de água e nutrientes e de sustentação das plantas, quando associado as bactérias diazotróficas passa a exercer também o papel de liberar diversos compostos orgânicos e inorgânicos que alteram os atributos físicos, químicos e biológicos da rizosfera (HINSINGER et al., 2009). Contudo, a rizosfera é um habitat ecologicamente complexo, com a participação de diversos agentes que podem interferir na capacidade das bactérias diazotróficas em colonizar a rizosfera (solo) e o rizoplano (tecido fresco), com destaque para a produção de substâncias antibióticas, eficiência na utilização dos substratos orgânicos, atratividade pelos rizodepósitos e taxa diferencial de crescimento da população bacteriana (WHIPPS, 2001).

No entanto, em alguns habitats, essas bactérias têm demonstrado grande potencial na FBN e na promoção do crescimento das plantas (REIS et al., 2006; FUKAMI et al., 2016; BOLETA et al., 2020). Dentre os microrganismos fixadores de N atmosférico e promotores do crescimento encontrados em associações com plantas da família Poaceae, as bactérias do gênero *Azospirillum* spp. Tarrand, Krieg & Döbereiner (Rhodospirillales: Azospirillaceae) têm demonstrado grande potencial para uso nos cultivos agrícolas. Essas bactérias também atuam na produção e na liberação de fitormônios, na solubilização do fosfato inorgânico e na estimulação do desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea das plantas (FUKAMI et al., 2018a). Resultados da associação de *Azospirillum* spp. com Poaceae têm demonstrado que

a inoculação deste microrganismo, na maioria das vezes, promove aumento na produção de matéria seca, no acúmulo de nitrogênio nas plantas e na produtividade das culturas (ALVES et al., 2020; BOLETA et al., 2020; BRUM et al., 2021). O sucesso desses microrganismos na FBN e na promoção do crescimento das plantas depende de diversos fatores, incluindo a espécie vegetal, textura e estrutura do solo, teor de matéria orgânica, condições climáticas, estirpe da bactéria e, principalmente, da adubação nitrogenada orgânica ou mineral exógena (DOBBELAERE et al., 2003; HUNGRIA, 2011; MORAIS et al., 2015).

3.4. Bactérias diazotróficas associativas como agentes de fixação biológica de nitrogênio e de promoção do crescimento de plantas

Bactérias diazotróficas pertencentes ao gênero *Azospirillum* spp. foram descobertas em 1975 pela pesquisadora da Embrapa, Dra. Johanna Döbereiner (1924-2000), que nomeou esses microrganismos como *Spirillum* (DÖBEREINER et al., 1976) e, mais tarde, renomeados para *Azospirillum* (TARRAND et al., 1978). *Azospirillum* spp. são α -proteobactérias, gram-negativas, móveis, de formato espiral, onde a espécie *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg & Döbereiner possui um flagelo polar desenvolvido quando em meio líquido e vários flagelos laterais adicionais, quando cultivadas em meio semissólido (MOREIRA et al., 2010). Essas bactérias colonizam tanto o interior, quanto a superfície das raízes de diversas espécies de plantas forrageiras e cereais da família Poaceae. No solo, essas bactérias podem ser encontradas no mucigel presente na rizosfera das plantas, o que caracteriza uma colonização externa das raízes, enquanto na colonização interna, as células de *Azospirillum* podem penetrar nos espaços intercelulares das raízes onde se alojam (HUNGRIA, 2011). Essas bactérias também podem sobreviver no solo na ausência de plantas hospedeiras e sob condições nutricionais desfavoráveis, onde desempenham papel importante nos mais diversos mecanismos fisiológicos de proteção das plantas, incluindo a produção de melanina, poli- β -hidroxibutirato (PHB) e polissacarídeos (MOREIRA et al., 2010), formação de cistos (agregados celulares) e mudança na forma das células. O padrão de colonização das raízes em Poaceae por espécies de *Azospirillum* evidencia uma certa especificidade entre essas bactérias e determinados grupos de plantas, sendo que *A. brasilense* ocorre preferencialmente associado as raízes de trigo, cevada, centeio, aveia, arroz e milho (LADE et al., 2018; ALVES et al., 2020; BOLETA et al., 2020; BRUM et al., 2021;).

O metabolismo do carbono e do nitrogênio apresentados pelas bactérias do gênero *Azospirillum* spp. têm sido bastante dinâmico e variado. Os ácidos orgânicos como malato,

piruvato e succinato são as fontes de carbono preferenciais das bactérias, havendo também uma aparente preferência de frutose sobre glicose. Por sua vez, nitrito, nitrato, amônia e aminoácidos, além do nitrogênio atmosférico, podem servir como fontes de N (DÖBEREINER, 1992).

Em comparação com as bactérias simbióticas, as bactérias associativas apresentam menor contribuição na FBN, pois as bactérias associativas excretam apenas uma parte do N fixado para as plantas associadas (HUNGRIA, 2011). Isto se deve ao fato que mesmo as bactérias associativas estando localizadas no interior das plantas, elas não apresentam uma relação tão complexa e organizada quanto à presente nas simbioses de bactérias nodulíferas com leguminosas (MOREIRA, 2010). Mesmo assim, as bactérias associativas conseguem aportar grande quantidade de N (não o total requerido pelas plantas) e induzir a produção de hormônios de crescimento (auxinas, giberelinas e citocininas) que alteram a morfologia e a fisiologia do sistema radicular e da parte aérea das plantas colonizadas (MOREIRA et al., 2010). A liberação desses fitormônios estimula a formação de pelos radiculares e/ou raízes secundárias nas plantas colonizadas, contribuindo para o aumento da extração de nutrientes e de água do solo (RADWAN et al., 2005; HUNGRIA, 2011; MOREIRA et al., 2010) e diminuição dos riscos de deficiência nutricional e de déficit hídrico pelas plantas.

Além disso, estudos prévios revelaram que bactérias do gênero *Azospirillum* spp. aumentaram os teores de clorofilas e a condutância estomática (BULEGON et al., 2017), melhorias no potencial hídrico (FORNI et al., 2017), maior elasticidade na parede celular, produção de biomassa, altura de plantas, produção de raízes (PANKIEVICZ et al., 2015), aumento no acúmulo/disponibilidade de nutrientes (GALINDO et al., 2016; ROSA et al., 2020) e na produtividade de grãos de diferentes espécies vegetais (MUNARETO, 2016; GALINDO et al., 2019a). Em trigo, a inoculação com *A. brasilense* proporcionou incremento na produtividade de 13 a 18% quando comparado com o tratamento sem inoculação e, em milho, o rendimento de grãos foi de 24 a 30% maior em plantas inoculadas do que no controle (HUNGRIA, 2011). Matos et al. (2017) verificaram que a interação entre adubação nitrogenada e inoculação com *A. brasilense* apresentou aumento linear no diâmetro do colmo de plantas de milho, efeito que também foi descrito por Guimarães et al. (2013), em que plantas inoculadas com *A. brasilense* apresentaram aumento de 8,7% no diâmetro do colmo quando comparadas às plantas controle.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local

Os experimentos foram realizados em ambiente protegido na Unidade de Ensino Pesquisa e Extensão em Produção Florestal (UEPE-Florestal) e, em campo, na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Culturas de Lavoura (UEPE-Culturas) do Instituto Federal de Santa Catarina - Câmpus São Miguel do Oeste, Santa Catarina (26°47' S, 53°30' O e altitude de 700 m) (WREGGE et al., 2012). De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfa mesotérmico úmido, com chuvas bem distribuídas, verões quentes e invernos brandos. A temperatura média do ar é de 19,3 °C e pluviosidade média anual de 1.873 mm (WREGGE et al., 2012). O solo é classificado como litossolo vermelho, fértil e com subsolo de origem basáltica (SANTOS et al., 2018).

4.2. Tratamentos e unidades experimentais

A eficiência de *Azospirillum* spp. na FBN e na promoção do crescimento foi avaliada em plantas de aveia-preta IPR 61 (Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná – IDR-Paraná, Curitiba, Paraná) tratadas com *A. brasilense* – cepas AbV5 e AbV6 (agFX-Azos® com 200 milhões de células mL⁻¹, Agroceres Binova, Rio Claro, São Paulo) na concentração recomendada pelo fabricante equivalente a 100 mL da formulação comercial por hectare associada a diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg N ha⁻¹) cultivadas em vaso (3,0 L) em ambiente protegido (UEPE-Florestal) e em parcelas de 3,0 × 3,0 m (9 m²) na UEPE-Culturas (unidades experimentais). A inoculação da bactéria foi realizada na semente de aveia-preta 30 minutos antes da semeadura. Nos experimentos em ambiente protegido e campo foram utilizados 15 e 5 unidades experimentais (vasos e parcelas), respectivamente. Para ambos os experimentos (ambiente protegido e campo) foi utilizado solo como substrato para o cultivo da aveia-preta. Três meses antes da semeadura da aveia-preta nas unidades experimentais, uma amostra (0 – 20 cm de profundidade) de solo do local foi coletada e enviada ao laboratório de análises físicas e químicas para verificar, não somente a necessidade de calagem e a disponibilidade de nutrientes no solo, mas também auxiliar na definição das doses de nitrogênio necessárias para suprir a demanda da cultura.

4.3. Semeadura da aveia-preta

Antes da semeadura, os resultados da análise de solo foram interpretados e calculados as quantidades de fertilizantes (NPK) necessárias para atender a demanda da cultura. De acordo com os resultados da análise de solo, não foi necessário realizar a calagem (solo com pH em H₂O de 6,4) e adubação potássica (solo com 343,5 mg dm⁻³ para CTC_{pH 7,0}) do solo utilizado como substrato para a semeadura da aveia-preta tanto nos experimentos realizados em ambiente protegido (vasos) quanto em campo (parcelas) (Tabela 1).

TABELA 1 – Teores de nutrientes/minerais no solo¹ (substrato) utilizado para a realização dos experimentos em ambiente protegido e campo conforme Tedesco et al. (1995).

Teor no solo	Resultado da análise
Argila (%)	67,0
pH H ₂ O	6,4
Índice SMP	6,4
P (mg dm ⁻³)	7,3
K (mg dm ⁻³)	343,5
Matéria orgânica (%)	3,1
Al (cmol _c dm ⁻³)	0,0
Ca (cmol _c dm ⁻³)	5,5
Mg (cmol _c dm ⁻³)	2,2
CTC _{efetiva} (cmol _c dm ⁻³)	8,6
CTC _{pH 7,0} (cmol _c dm ⁻³)	11,4
H + Al (cmol _c dm ⁻³)	2,8
S (mg dm ⁻³)	20,0
Zn (mg dm ⁻³)	6,1
Cu (mg dm ⁻³)	8,1
B (mg dm ⁻³)	0,44
Mn (mg dm ⁻³)	18,0

No entanto, a disponibilidade de fósforo no solo estava na faixa média (solo com 7,3 mg dm⁻³ de P para teor de argila de 67%). De acordo com o Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (SBCS), solos com disponibilidade de P muito baixo, baixo e médio, recomenda-se realizar a correção dos teores de P para a classe de disponibilidade alta (SBCS/NRS, 2016).

Portanto, a correção dos teores de P foram realizadas tanto nos vasos como nas parcelas utilizando o fertilizante superfosfato triplo na dosagem equivalente a 40 kg de P_2O_5 ha^{-1} . Para nitrogênio, a análise de solo indicou teor de matéria orgânica de 3,1%. Neste caso, a SBCS recomenda para aveia-preta destinada ao pastejo e com expectativa de produção de 6,0 ton. MS ha^{-1} o uso de 120 – 140 kg de N ha^{-1} . No presente estudo foram utilizadas dosagens equivalentes a 0, 50, 100 e 140 kg de N ha^{-1} .

Após a adubação, a cultura da aveia-preta foi semeada a uma profundidade de aproximadamente 3 cm, utilizando sementes da cultivar IPR 61 recomendada para a região. Para os experimentos realizados em ambiente protegido, três grupos de três sementes (nove sementes por vaso) foram colocados de forma equidistante na área central das unidades experimentais. Após a semeadura, as unidades experimentais foram irrigadas por microaspersores visando atender a demanda hídrica da cultura. Após a emergência das plântulas, foi realizado um desbaste, mantendo-se apenas três plântulas por vaso (uma em cada ponto de semeadura). Por sua vez, no estudo de campo, a aveia-preta foi semeada em linha com 20 cm de espaçamento e densidade de aproximadamente 300 plantas por metro quadrado. Neste estudo, não foi necessário realizar o acionamento do sistema de irrigação para atender a demanda hídrica da cultura.

4.4. Avaliação morfofenológica das plantas de aveia-preta

Para avaliação morfofenológica da aveia-preta, plantas foram cultivadas em vaso de 3 L contendo substrato (solo do tipo litossolo vermelho) em ambiente protegido na UEPE-Florestal do IFSC-SMO. As plantas foram avaliadas quanto ao desenvolvimento fenológico inicial (até 45 dias após a emergência), altura de planta, diâmetro do colmo, volume do sistema radicular e massas fresca e seca do sistema radicular e da parte aérea. Para avaliação do desenvolvimento fenológico inicial das plantas de aveia-preta foi utilizado a escala de desenvolvimento fenológico (estaca 0 – 100) proposta por Zadoks et al. (1974). As avaliações fenológicas foram realizadas aos 3, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 e 45 dias após a semeadura da cultura. A altura de planta foi determinada por meio de medidas tomadas a partir da coroa até a extremidade distal da folha mais jovem das plantas. Por sua vez, o diâmetro do colmo foi determinado com base na média de duas leituras (uma no sentido do maior e outra no de menor diâmetro dos colmos) realizadas a 1,0 cm acima da coroa (interface entre o sistema radicular e a parte aérea) das plantas usando um paquímetro digital.

Para as avaliações morfofenológicas, as plantas de aveia-preta com 45 dias após a emergência, foram individualmente removidas dos vasos, lavadas em água corrente, colocadas em sacos plásticos e transportadas ao laboratório de Fisiologia e Fitossanidade Vegetal do IFSC-SMO. No laboratório, o sistema radicular das plantas foi seccionado na região da coroa, colocado sobre papel de filtro para evaporação da água superficial por uma hora e imersas em uma proveta graduada com água para determinação do volume de raízes das plantas. O volume radicular foi determinado com base na diferença entre o volume de água deslocado após a imersão das raízes da planta na proveta (final) e o volume de água inicial conhecido (início). Feito isso, as raízes foram removidas da proveta e colocadas sobre papel de filtro para secagem superficial por duas horas. Após este período, as raízes foram pesadas em balança analítica (precisão de 0,0001g) para determinação da massa fresca do sistema radicular das plantas. Após a pesagem, as raízes foram colocadas em sacos de papel Kraft e submetidas a secagem em estufa com ventilação forçada de ar a 60 °C, onde permaneceram até atingir peso constante. Após a secagem, as raízes foram novamente pesadas em balança analítica (precisão 0,0001g) para determinação da matéria seca das raízes (DOMINGUES-NETO et al., 2014; MORAIS et al., 2015).

Para determinação da massa fresca da parte aérea, folhas e colmos de cada planta foram pesadas em balança analítica (precisão 0,0001g), colocados em sacos de papel Kraft e submetidos a secagem em estufa com ventilação forçada de ar a 60 °C até atingir peso constante. Após a secagem, as folhas e colmos foram novamente pesados em balança analítica (precisão 0,0001g) para determinação da massa seca (DOMINGUES-NETO et al., 2014). Todas essas análises foram realizadas em 15 unidades experimentais (vasos) com três plantas/vaso para cada nível de tratamento.

4.5. Avaliações fisiológicas da aveia-preta

Os atributos fisiológicos (clorofilas *a*, *b* e *total* e conteúdo de proteína bruta) da aveia-preta inoculadas com as cepas AbV5 e AbV6 de *A. brasilense* em associação com diferentes doses de nitrogênio foi avaliado em plantas cultivadas em condições de campo.

4.5.1. Determinação das concentrações de clorofilas a, b e total nas folhas de aveia-preta

Para determinação das concentrações das clorofilas *a*, *b* e *total*, amostras de folhas de aveia-preta foram coletadas nas unidades experimentais (parcelas) no experimento realizado em campo, colocadas em sacos plásticos em caixa de poliestireno, transportadas ao Laboratório

de Fitossanidade e Fisiologia Vegetal e analisadas pelo método de espectrofotometria descrito por Arnon (1949). Para isso, amostras de folhas (0,177 – 0,270g) de aveia-preta completamente desenvolvidas foram pesadas em balança analítica (precisão 0,0001g), maceradas em acetona 80% e os extratos filtrados em papel de filtro e transferidos para balões volumétricos de 10 mL, completando-se o volume com acetona 80% (AMARANTE et al., 2010). As leituras espectrofotométricas foram realizadas nos comprimentos de onda de 645 e 663 nm utilizando cubetas de quartzo. A partir dessas leituras, determinou-se a concentração (mg cm^{-3}) das clorofilas *a*, *b* e *total* nas soluções de leitura usando as pelas fórmulas propostas por Arnon (1949), sendo: clorofila *a* = $(12,7 \times A_{663\text{nm}}) - (2,69 \times A_{645\text{nm}})$, clorofila *b* = $(22,9 \times A_{645\text{nm}}) - (4,68 \times A_{663\text{nm}})$ e clorofilas total = $(20,2 \times A_{645\text{nm}}) + (8,02 \times A_{663\text{nm}})$. Esses valores foram transformados para teores de clorofilas *a*, *b* e total nas folhas e expressos em unidades de massa fresca ($\mu\text{g g}^{-1}$) conforme sugerido por Richardson et al. (2002).

4.5.2. Determinação do teor de proteína bruta nas folhas de aveia-preta

O teor de proteína bruta (PB) da aveia-preta foi determinado na folha bandeira da aveia-preta usando o método de Bradford (1976). Para isso, 10 folhas bandeiras foram aleatoriamente coletadas em cada parcela no experimento realizado em campo, colocadas em tubos Falcon de 25 mL e transportadas ao laboratório para as análises. Antes da extração da PB, o reagente de Bradford foi preparado usando 100 mg de Coomassie® Brilliant Blue G-250 ($\text{C}_{47}\text{H}_{48}\text{N}_3\text{NaO}_7\text{S}_2$) 0,2% dissolvido em 50 mL de etanol 95%. Feito isso, 100 mL de ácido fosfórico 85% foi adicionado ao reagente de Bradford, homogeneizado em um Becker e o volume de 1.000 mL completado com de água destilada. Após, a solução foi filtrada e armazenada em frasco âmbar em geladeira. Paralelamente ao preparo do reagente de Bradford, foi preparado uma solução de 50 mL BSA (Bovine Serum Albumine) 0,1%. Para isso, 0,88 g de NaCl foi dissolvido em 100 mL de água destilada para obtenção de uma solução salina a 0,15 M. Após, 100 mg de BSA foi dissolvido em 100 mL de NaCl 0,15 M, dividido em frações menores (~ 2,5 mL) e armazenado em freezer. Além disso, foi preparado uma solução usando fosfato dibásico (0,1M) + fosfato monobásico (0,1 M) a pH 6,8 + ácido etilenodiaminotetraacético (0,1 M) + fluoreto de fenilmetilsulfonil (0,1 M) em um almofariz.

Antes da extração da PB das folhas bandeiras da aveia-preta, uma curva concentração-resposta foi realizada em triplicata usando tubos de ensaios e alíquotas de 0, 25, 50, 75 e 100 mL da solução extratora + 2,5 mL do reagente de Bradford agitado em vórtex. Após, a solução foi transferida para cubetas de vidro e realizadas leituras espectrofotométricas utilizando

comprimento de onda de 595 nm. Após a realização da solução extratora e da curva concentração-resposta, amostras de 0,3g de folhas bandeiras foram pesadas em balança analítica (precisão de 0,0001g), as quais foram colocadas em cadinhos, adicionado 2,5 mL da solução extratora, maceradas, retiradas, adicionadas em tubos Eppendorfs de 2,5 mL, centrifugadas a 7.000 rpm por 20 minutos a 4 °C. Após a centrifugação, o sobrenadante das amostras foi retirado e adicionados em tubos Eppendorfs de 2,5 mL e armazenados em freezer. Para a leitura espectrofotométrica, 50 µL de cada amostra foi retirada e adicionada em cubetas de vidro com 2.950 µL de solução Coomassie® Brilliant Blue G-250 (total 3.000 µL ou 3 mL). Feito isso, as amostras foram submetidas a leitura em espectrofotômetro utilizando comprimento de onda de 595 nm. Com base nas leituras das amostras e na curva concentração-resposta, o teor de PB das folhas bandeiras de aveia-preta foi determinado e os resultados expressos em miligrama de PB por grama de massa fresca.

4.6. Determinação da produtividade de biomassa e de grãos da aveia-preta cultivadas em campo

A produtividade de biomassa e de grãos da aveia-preta foi avaliada aos 60 dias após a emergência e na maturação de colheita, respectivamente. Para determinação da massa seca, amostras de plantas de aveia-preta foram aleatoriamente coletadas (cortadas a aproximadamente 3,0 cm de acima do solo) em uma área de 0,25 m² (0,5 × 0,5 m), colocadas em sacos de papel Kraft, transportadas ao laboratório, pesadas (massa fresca) em balança analítica (precisão de 0,0001g) e submetidas a secagem em uma estufa de circulação de ar a 60 °C até atingir peso constante. Após a secagem, as amostras foram pesadas em uma balança analítica (precisão de 0,0001g) para determinação da massa seca.

Para determinação da produtividade de grãos de aveia-preta nos diferentes níveis de tratamento, uma amostra de 1 m² foi aleatoriamente coletada no centro de cada unidade experimental. As amostras foram colocadas em sacos de papel Kraft, manualmente trilhadas, pesadas em balança analítica (precisão de 0,0001g) e submetidas a secagem em estufa com ventilação forçada de ar a 60 °C até atingir peso constante. Após a secagem, os grãos foram pesados em balança analítica (precisão de 0,0001g) e a produtividade (kg ha⁻¹) calculada para cada nível de tratamento (ANTONOW, 2013).

4.7. Delineamento experimental e análise dos dados

Os experimentos em ambiente protegido e de campo foram realizados seguindo o delineamento inteiramente aleatorizado em esquema fatorial 2×4 [com/sem inoculante \times quatro doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg N ha⁻¹)]. Os dados de cada variável resposta foram inicialmente submetidos ao teste de Bartlett (BARTLETT, 1937) para verificar a homogeneidade das variâncias e de Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965) para verificar a normalidade dos resíduos. Como os dados atenderem as pressuposições do modelo normal, estes foram inicialmente submetidos a análise de variância ANOVA e, posteriormente, ao teste de desmembramento da interação usando a função “*ExpDes*” e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Todas as análises foram realizadas no software estatístico “R” versão 4.3.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2023).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A bioefetividade da bactéria diazotrófica *A. brasilense* sobre os atributos morfológicos (número de perfilhos planta⁻¹, altura de planta, diâmetro do colmo, volume de raízes e massas fresca e seca de raízes e da parte aérea), fenológicos (desenvolvimento inicial das plantas), fisiológicos (concentrações de clorofilas *a*, *b* e *total* e teor de proteína bruta nas folhas) e produtivos (biomassa e de grãos) da aveia-preta foi avaliada isoladamente ou em associação com diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg de N ha⁻¹) em ambiente protegido e/ou campo. Os resultados mostraram que a inoculação de sementes de aveia-preta IPR 61 com as cepas AbV5 e AbV6 de *A. brasilense* proporcionou incremento nos parâmetros morfológicos, fenológicos, fisiológicos e produtivos da cultura, sendo os níveis de resposta dependentes das doses de nitrogênio utilizadas no momento da semeadura da cultura. De modo geral, a maior efetividade do inoculante foi observado em plantas cultivadas com a utilização de aproximadamente 35,7% da dose de nitrogênio (50 kg N ha⁻¹) recomendada para a cultura (Tabelas 2, 3, 4 e 5). Esses resultados corroboram os obtidos por Fukami et al. (2016) que verificaram uma redução de aproximadamente 25% na necessidade de fertilizantes nitrogenados para garantir o mesmo desempenho agrônômico de plantas de trigo quando comparado às plantas que receberam 100% da demanda deste macronutriente na forma de ureia. Da mesma forma, Pankievicz et al. (2015) relataram que plantas de *Setaria viridis* (L.) P. Beauv. (Poales: Poaceae) inoculadas com *A. brasilense* e cultivadas em ambiente com baixo aporte de

TABELA 2 – Efetividade da bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense* associada a diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg N ha⁻¹) no desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea de plantas de aveia-preta cultivar IPR 61 cultivadas em ambiente protegido.

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	Inoculação de <i>A. brasilense</i> (100 mL ha ⁻¹)	¹ Número de perfilhos planta ⁻¹	¹ Altura de planta (cm)	¹ Diâmetro de colmo (mm)	¹ Volume de raiz (cm ³)	¹ Massa fresca (g)		¹ Massa seca (g)	
						Raiz	Parte aérea	Raiz	Parte aérea
0	Sem	6,4 ± 0,50 Ac	30,4 ± 1,16 Ad	3,3 ± 0,11 Ac	14,6 ± 2,19 Ac	14,3 ± 2,28 Ac	9,4 ± 0,61 Ad	1,3 ± 0,27 Ac	1,5 ± 0,13 Ad
	Com	6,7 ± 0,50 Ac	33,4 ± 1,40 Ad	3,2 ± 0,09 Ac	17,5 ± 1,30 Ac	17,3 ± 1,26 Ac	9,6 ± 0,58 Ad	1,5 ± 0,12 Ac	1,6 ± 0,12 Ad
50	Sem	11,0 ± 1,20 Ab	37,6 ± 1,30 Bc	3,7 ± 0,05 Bb	20,4 ± 1,51 Bb	20,9 ± 1,61 Bb	21,8 ± 1,41 Bc	2,4 ± 0,35 Bb	3,7 ± 0,31 Bc
	Com	11,9 ± 0,96 Ab	42,0 ± 1,69 Ac	4,1 ± 0,07 Ab	27,6 ± 1,83 Ab	27,5 ± 1,86 Ab	25,4 ± 1,19 Ac	3,2 ± 0,31 Ab	4,1 ± 0,37 Ac
100	Sem	12,3 ± 1,04 Ab	44,9 ± 1,17 Ab	4,1 ± 0,10 Aa	26,1 ± 2,01 Aab	25,4 ± 1,73 Bab	33,2 ± 2,34 Ab	3,2 ± 0,24 Aab	5,2 ± 0,36 Ab
	Com	15,1 ± 1,10 Ab	44,0 ± 1,43 Ab	4,3 ± 0,08 Aa	33,2 ± 2,79 Aab	33,8 ± 3,10 Aab	37,8 ± 1,76 Ab	3,7 ± 0,59 Aab	6,0 ± 0,44 Ab
140	Sem	17,0 ± 1,27 Aa	47,4 ± 0,71 Aa	4,2 ± 0,12 Aa	31,9 ± 3,02 Aa	34,5 ± 3,15 Aa	41,1 ± 3,08 Aa	4,5 ± 0,65 Aa	6,3 ± 0,53 Aa
	Com	16,4 ± 1,12 Aa	49,6 ± 2,28 Aa	4,3 ± 0,15 Aa	36,1 ± 3,70 Aa	35,8 ± 3,49 Aa	45,4 ± 4,01 Aa	4,4 ± 0,30 Aa	6,9 ± 0,58 Aa

¹Dados (média ± EP) seguidos pela mesma letra maiúscula dentro de cada grupo (sem ou com inoculação) e minúscula (entre doses de nitrogênio) não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

TABELA 3 – Atividade de *Azospirillum brasilense* associada a diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg N ha⁻¹) no desenvolvimento fenológico da aveia-preta cultivar IPR 61 cultivadas em ambiente protegido.

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	Inoculação de <i>A. brasilense</i> (100 mL ha ⁻¹)	Tempo (dias após a semeadura - DAS) ¹ /Fenologia da cultura ²										
		0 DAS	3 DAS	7 DAS	10 DAS	15 DAS	20 DAS	25 DAS	30 DAS	35 DAS	40 DAS	45 DAS
0	Sem	0 Aa	5 Aa	7 Aa	10 Ab	11 Ac	13 Ad	21 Ad	25 Ac	26 Ad	26 Ad	31 Ad
	Com	0 Aa	5 Aa	7 Aa	10 Ab	11 Ac	13 Ad	21 Ad	25 Ac	26 Ad	26 Ad	31 Ad
50	Sem	0 Aa	5 Aa	7 Aa	10 Bb	12 Bb	15 Bc	23 Bc	27 Bb	29 Bc	30 Bc	31 Bc
	Com	0 Aa	5 Aa	7 Aa	11 Aa	13 Aa	17 Ab	25 Ab	29 Aa	31 Ab	32 Ab	33 Ab
100	Sem	0 Aa	5 Aa	7 Aa	11 Aa	13 Aa	21 Aa	26 Aa	29 Aa	32 Aa	34 Aa	35 Aa
	Com	0 Aa	5 Aa	7 Aa	11 Aa	13 Aa	21 Aa	26 Aa	29 Aa	32 Aa	34 Aa	35 Aa
140	Sem	0 Aa	5 Aa	7 Aa	11 Aa	13 Aa	21 Aa	26 Aa	29 Aa	32 Aa	34 Aa	35 Aa
	Com	0 Aa	5 Aa	7 Aa	11 Aa	13 Aa	21 Aa	26 Aa	29 Aa	32 Aa	34 Aa	35 Aa

¹Dados (média ± EP) seguidos pela mesma letra maiúscula dentro de cada grupo (sem ou com inoculação) e minúscula (entre doses de nitrogênio) não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

²Fenologia da cultura da aveia-preta de acordo com a escala proposta por Zadoks et al. (1974), onde: 0 = semente seca; 5 = protusão da radícula; 7 = protusão do coleótilo; 10 = primeira folha fora do coleótilo; 11 = primeira folha desenrolada; 12 = segunda folha desenrolada; 13 = terceira folha desenrolada; 15 = quinta folha desenrolada; 17 = sétima folha desenrolada; 21 = planta com um perfilho; 23 = planta com três perfilhos; 25 = planta com cinco perfilhos; 26 = planta com seis perfilhos; 27 = planta com sete perfilhos; 29 = planta com mais de oito perfilhos; 30 = pseudocaule; 31 = primeiro nó visível; 32 = segundo nó visível; 33 = terceiro nó visível; 34 = quarto nó visível e 35 = quinto nó visível.

nitrogênio exógeno se desenvolveram de maneira semelhante às aquelas cultivadas com suficiência deste nutriente. Portanto, esses resultados sugerem que a inoculação de *A. brasilense* em sementes de aveia-preta constitui uma importante alternativa para aumentar a taxa de crescimento/desenvolvimento e de produtividade da cultura.

Considerando todas as variáveis analisadas no presente estudo, nenhuma interação foi observada entre as características explanatórias inoculação de *A. brasilense* × doses de nitrogênio para o perfilhamento da aveia-preta IPR 61 (Tabela 2). Mendes et al. (2011) e Mumbach et al. (2015) também não verificaram incremento no número de perfilhos de trigo comum quando sementes foram inoculadas com *A. brasilense*. Porém, Fakami et al. (2016) reportaram um pronunciado aumento no número de perfilhos em plantas de trigo comum quando *A. brasilense* foi pulverizado sobre as plantas. De acordo com esses autores, *A. brasilense* consegue penetrar nas folhas e translocar intercelularmente até os colmos e raízes das plantas, onde provoca alterações fitoquímicas e hormonais que favorecem o desenvolvimento de estruturas vegetativas (perfilhos) na base das plantas. Provavelmente, a inefetividade da bactéria em induzir a produção de perfilhos nas plantas de aveia-preta, no presente estudo, está relacionada, entre outros fatores, a menor capacidade de multiplicação da bactéria na fase inicial de desenvolvimento da cultura, menor afinidade do microrganismo com o sistema radicular da aveia-preta, a forma de aplicação do microrganismo (tratamento de semente × aplicação foliar), às condições climáticas, a baixa capacidade de fixação/disponibilização de nitrogênio para as plantas e de causar alterações fitormônias nos tecidos meristemáticos basais das plantas. Assim, estudos que avaliam a efetividade da bactéria *A. brasilense* nas diferentes formas de aplicação, condições climáticas, espécies de plantas hospedeira, disponibilidade de nitrogênio e sua participação na produção/alteração de hormônios vegetais devem ser realizados para verificar a contribuição da bactéria na emissão de perfilhos nas plantas de aveia-preta.

Apesar da ineficiência da bactéria *A. brasilense* na indução do perfilhamento em plantas de aveia-preta IPR 61, a aplicação de diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg N ha⁻¹) proporcionou, de maneira dependente da concentração, incrementos significativos no número de perfilhos emitidos pelas plantas (Tabela 2). A emissão de perfilhos é mediado pelas características da espécie/cultivar, genética, condições ambientais, densidade/espacamento e fitormônios, disponibilidade de nutrientes (principalmente nitrogênio) no solo (DUN et al., 2009; FAKAMI et al., 2016). O nitrogênio é um macronutriente altamente requerido pelas plantas de aveia-preta, pois participa ativamente da composição de aminoácidos, proteínas,

enzimas de diversas vias metabólicas [incluindo a ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase (RUBISCO) - enzima responsável pela assimilação de carbono durante o processo fotossintético das plantas (GOMIDE et al., 2020)], ácidos nucleicos (SCHARF, 2015) e fitormônios (auxinas, estrigolactonas, citocininas, etileno, giberilinas, ácido salicílico etc.) que regulam o crescimento/desenvolvimento das gemas laterais basais das plantas (VEJAN et al., 2016; FUKAMI et al., 2018a). O nitrogênio também atua na expressão de genes que regulam o processo de divisão/expansão celular e de transporte/distribuição de nutrientes (especialmente carboidratos e aminoácidos) para os meristemas axilares, onde estimulam a emissão de estruturas vegetativas nas gemas basais das plantas perfilhantes (LUO et al., 2020).

Diante da grande participação do nitrogênio nos processos fisiológicos e bioquímicos das plantas, o excesso deste macronutriente também pode causar efeitos negativos no desenvolvimento vegetativo e produtivo das culturas. O excesso de nitrogênio pode alterar a relação fonte/dreno nas plantas (emissão de perfilhos – inicialmente considerado como drenos), aumentar a suscetibilidade das plantas às pragas (principalmente de insetos sugadores) e doenças, prejudicar o processo de formação das estruturas reprodutivas e aumentar as chances de acamamento das culturas. Por isso, recomenda-se utilizar doses adequadas de nitrogênio para otimizar a capacidade de emissão de perfilhos sem alterar os níveis de acamamento e de suscetibilidade fitossanitária das plantas. Portanto, o uso de altas doses de fertilizantes nitrogenados devem ser realizada em cultivares com menor capacidade de perfilhamento ou nas cultivares perfilhantes que o produtor deseja aumentar a densidade de semeadura, realizar a semeadura no final do período ideal estabelecido pelo Zoneamento Agrícola de Risco Climático (ZARC) ou em regiões com temperaturas médias diárias mais elevadas (CRUZ et al., 2021).

Por outro lado, interações foram observadas entre as características explanatórias inoculação de *A. brasilense* e doses de nitrogênio para os atributos morfológicos [altura de planta, diâmetro de colmo, volume de raízes, massas fresca/seca de raízes/parte aérea (Tabela 2)], fenológicos [desenvolvimento vegetativo inicial da cultura (Tabela 3)], fisiológicos [conteúdo de clorofilas *a*, *b* e *total* e proteína bruta (Tabela 4)] e produtivos [produção de massas fresca/seca e de grãos (Tabela 5)] da aveia-preta. Entre os tratamentos testados, a maior efetividade da inoculação da bactéria *A. brasilense* no crescimento/desenvolvimento e produtividade da aveia-preta foi observada quando o inoculante foi utilizado e associação com 50 kg N ha⁻¹. Porém, nenhum incremento foi observado nos atributos morfofenológicos, fisiológicos e produtivos das plantas de aveia-preta cultivadas com 100 ou 140 kg N ha⁻¹ com a inoculação da bactéria *A. brasilense*. Esses resultados estão em consonância aos reportados

TABELA 4 – Ação da bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense* associada a diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg N ha⁻¹) na concentração de clorofilas *a*, *b* e *total* e no teor de proteína bruta em folhas bandeiras de aveia-preta.

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	Inoculação de <i>A. brasilense</i> (100 mL ha ⁻¹)	Concentração de clorofilas ¹ (µg g ⁻¹ MF)			Proteína bruta ¹ (mg g ⁻¹ MF)
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>Total</i>	
0	Sem	4.908,6 ± 89,8 Bc	1.067,9 ± 28,4 Aa	5.976,4 ± 71,8 Bc	94,2 ± 10,1 Bc
	Com	5.609,9 ± 83,3 Ab	879,0 ± 67,7 Bb	6.488,8 ± 98,6 Ab	121,4 ± 10,4 Ab
50	Sem	5.603,6 ± 58,8 Bb	837,5 ± 77,2 Ab	6.441,1 ± 69,4 Bb	124,1 ± 11,9 Bb
	Com	5.928,5 ± 94,0 Aa	847,7 ± 70,7 Ab	6.776,2 ± 81,9 Aa	150,3 ± 12,3 Aa
100	Sem	5.867,3 ± 89,1 Aa	826,5 ± 59,8 Ab	6.693,9 ± 84,5 Aa	152,4 ± 10,3 Aa
	Com	5.910,3 ± 11,4 Aa	843,7 ± 37,6 Ab	6.754,1 ± 24,6 Aa	154,9 ± 11,1 Aa
140	Sem	5.851,2 ± 93,9 Aa	768,8 ± 51,8 Ab	6.620,0 ± 97,2 Aa	153,9 ± 12,6 Aa
	Com	5.899,0 ± 80,0 Aa	869,5 ± 49,1 Ab	6.768,4 ± 99,1 Aa	151,9 ± 11,5 Aa

¹Dados (média ± EP) seguidos pela mesma letra maiúscula dentro de cada grupo (sem ou com inoculação) e minúscula (entre doses de nitrogênio) não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

TABELA 5 – Ação da bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense* associada a diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 140 kg N ha⁻¹) na produção de massas fresca e seca e na produtividade de grãos da cultura da aveia-preta.

Dose de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	Inoculação de <i>A. brasilense</i> (100 mL ha ⁻¹)	Massa fresca (kg ha ⁻¹)	Massa seca (kg ha ⁻¹)	Produtividade de grãos (kg ha ⁻¹)
0	Sem	18.112,7 ± 187,7 Bf	2.895,1 ± 28,1 Bf	1320,6 ± 80,4 Bd
	Com	19.624,8 ± 427,5 Ae	3.201,6 ± 56,4 Ae	1415,8 ± 48,6 Ad
50	Sem	27.128,8 ± 379,2 Bd	4.360,4 ± 59,8 Bd	2042,8 ± 64,5 Bc
	Com	30.320,6 ± 412,7 Ac	4.709,9 ± 36,0 Ac	2279,6 ± 89,6 Ab
100	Sem	35.292,1 ± 642,4 Ab	5.637,8 ± 70,7 Ab	2420,1 ± 95,1 Ab
	Com	36.964,4 ± 308,5 Ab	5.858,9 ± 52,8 Ab	2531,2 ± 55,9 Aa
140	Sem	38.300,5 ± 277,6 Aa	6.043,4 ± 29,9 Aa	2539,3 ± 88,3 Aa
	Com	38.548,6 ± 283,7 Aa	6.146,7 ± 45,2 Aa	2605,3 ± 79,8 Aa

¹Dados (média ± EP) seguidos pela mesma letra maiúscula dentro de cada grupo (sem ou com inoculação) e minúscula (entre doses de nitrogênio) não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

por Galindo et al. (2019b) que verificaram significativos incrementos no desenvolvimento, na produtividade e na qualidade de plantas de trigo inoculadas com *A. brasilense* e associação com subdoses de fertilizantes nitrogenados. De acordo com esses autores, a inoculação de *A. brasilense* não dispensa completamente o uso de fertilizantes nitrogenados, mas diminui

substancialmente a necessidade de aplicação de altas doses de nitrogênio para atender os requerimentos nutricionais das culturas. A contribuição de *Azospirillum* spp. na fixação e disponibilização de nitrogênio para atender parte da demanda nutricional das plantas durante o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas tem sido amplamente reportada na literatura. Por exemplo, Boleta et al. (2020) verificaram aumento de 13,1% na altura de plantas de trigo CD1104 inoculadas com as cepas AbV5 e AbV6 de *A. brasilense* associada a aplicação de 22 kg N ha⁻¹ (NPK na fórmula 08-28-16) na semeadura da cultura. Picazevicz et al. (2017) investigando a resposta da inoculação de *A. brasilense* isoladamente ou em associação com *Rhizobium tropici* Martínez-Romero et al. (SEMIA 4077 e SEMIA 4088), molibdênio (0, 7.5, 15, 22,5 e 30 g ha⁻¹) ou nitrogênio (30 kg N ha⁻¹) em milho verificaram um aumento no diâmetro de colmo e na produção de biomassa da parte aérea, raízes e total das plantas tratadas com *A. brasilense* isoladamente ou em associação com nitrogênio. Kasi et al. (2022) demonstraram que a inoculação de *A. brasilense* em associação com 50 kg N ha⁻¹ na semeadura + 33 ou 75 kg N ha⁻¹ em cobertura reduziu substancialmente o ciclo de desenvolvimento vegetativo (fenologia) do trigo, independentemente da dose de nitrogênio utilizado em cobertura. Galindo et al. (2019b) observaram índices de clorofila foliar equivalentes em plantas de milho inoculadas com *A. brasilense* associados a subdoses (50 kg ha⁻¹) de nitrogênio exógeno em relação às plantas que receberam altas doses (100, 150 ou 200 kg N ha⁻¹) de nitrogênio exógeno. Naseri et al. (2013) estudando o efeito da inoculação da bactéria *A. brasilense* em associação com subdoses de biofertilizantes na produtividade e na qualidade de grãos de milho verificaram um aumento substancial no número de grãos, no peso de grãos e no conteúdo de proteína bruta nos grãos produzidos pelas plantas inoculadas. Brun et al. (2021) revelaram um aumento, de maneira dependente da dose de nitrogênio, na produção de biomassa da pastagem de aveia-preta + azevém inoculadas com *A. brasilense*, enquanto Piccinin et al. (2013) reportaram incremento na produtividade de grãos de trigo com a inoculação dessa bactéria.

O incremento nos atributos morfológicos (exceto para o número de perfilhos por plantas), fenológicos, fisiológicos (exceto para clorofila *b*) e produtivos da aveia-preta proporcionado pela inoculação das cepas AbV5 e AbV6 da bactéria *A. brasilense* em associação com 50 e/ou 0 kg N ha⁻¹ em plantas de aveia-preta está associada, em hipótese, a maior atividade da bactéria na fixação e disponibilização de nitrogênio para as plantas e as alterações fitormonais provocadas pela presença da bactéria presente no sistema radicular da cultura. Apesar da quantidade de nitrogênio fixado e disponibilizado para as plantas de aveia-preta não ter sido analisado no presente estudo, o incremento nos teores de clorofilas *a* e *total* e do

conteúdo de proteína bruta presentes nas folhas das plantas cultivadas com inoculação de *A. brasilense* ou com *A. brasilense* + 50 kg N ha⁻¹ exógeno sugere que a bactéria foi capaz de aportar parte do nitrogênio requerido pela cultura. Como o nitrogênio é um dos principais constituintes das clorofilas (GALINDO et al., 2016), aportes adicionais deste macronutriente proporcionado pelo inoculante pode aumentar a atividade fotossintética das plantas (acúmulo de carbono) e auxiliar na elevação dos níveis de produtividade (fitomassa/grãos) das culturas (TAIZ; ZEIGER, 2010). A relação positiva das clorofilas com o nitrogênio (COSTA et al., 2012; KAPPES et al., 2013; KAPPES et al., 2014) deve-se ao fato de que 50 a 70% do nitrogênio total das folhas ser integrante de enzimas que estão associadas aos cloroplastos das células dos vegetais (ARGENTA et al., 2001). Entre as clorofilas presentes nas plantas, a clorofila *a* é encontrada em todos os organismos que realizam fotossíntese oxigênica [fase fotoquímica – primeiro estágio do processo fotossintético (STREIT et al., 2005)], enquanto os pigmentos acessórios (clorofilas *b*, *c* e *d*, por exemplo) auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação (TAIZ; ZIEGER, 2010).

No presente estudo, os teores de clorofilas *a* e *total* foram menores em plantas de aveia-preta cultivadas em ambiente de baixa disponibilidade de nitrogênio sem inoculação (0 ou 50 kg N ha⁻¹) quando comparadas às plantas inoculadas com a bactéria *A. brasilense* associada as doses de nitrogênio de 0 ou 50 kg N ha⁻¹ (Tabela 3). Porém, os teores de clorofilas *a* e *total* nos tratamentos utilizando 100 ou 140 kg N ha⁻¹ com ou sem inoculação da bactéria foram equivalentes ao tratamento utilizando *A. brasilense* + 50 kg N ha⁻¹. Esses resultados indicam que plantas de aveia-preta cultivadas em ambiente de menor disponibilidade de nitrogênio (0 ou 50 kg N ha⁻¹ sem inoculação da bactéria) apresentam menor capacidade de conversão da energia luminosa em energia química (folhas de cor amarelo-esverdeada), enquanto as plantas cultivadas com inoculação de *A. brasilense* associadas a 0 ou 50 kg N ha⁻¹ apresentam maior teor de clorofila *a* (folhas de coloração azul-esverdeadas) que favorece o acúmulo de fitomassa e de produtividade de grãos pelas plantas. Esses resultados corroboram os obtidos por Müller et al. (2016) e Galindo et al. (2016) que verificaram em plantas de milho cultivadas com diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹) associadas a inoculação de *A. brasilense* maiores índices de clorofila foliar em relação às plantas cultivadas na ausência da bactéria. Portanto, a inoculação de sementes de aveia-preta com *A. brasilense* contribui substancialmente para a fixação e disponibilização parcial de nitrogênio requerido pelas plantas quando a aveia-preta é cultivada em condições de baixa disponibilidade deste macronutriente.

Provavelmente, as respostas positivas observadas nas plantas de aveia-preta inoculadas com *A. brasilense* e cultivadas em ambiente com baixo fornecimento de nitrogênio exógeno está associada não somente a fixação de nitrogênio pela bactéria, mas também à produção de fitormônios de crescimento (especialmente ácido indolacético, giberelina e citocinina) que desempenham papel importante na promoção do crescimento, na produção de fitomassa e na produtividade da cultura. Essas evidências são suportadas por Pankiewicz et al. (2015) que verificaram incrementos nos atributos de crescimento/desenvolvimento do sistema radicular de *Setaria viridis* (L.) P. Beauv. em função da maior fixação de CO₂ (conversão do dióxido de carbono em uma molécula orgânica conhecida como 3-fosfoglicerato) durante o processo fotossintético, maior crescimento vegetativo da parte aérea, maior teor de água nos tecidos, maior produtividade e menores níveis de suscetibilidade ao déficit hídrico quando a cultura foi inoculada com *A. brasilense*. De acordo com Barassi et al. (2008) melhorias nos parâmetros fotossintéticos (principalmente clorofilas e condutância estomática) proporcionado pela inoculação de *A. brasilense* proporciona maior produção de aminoácidos na parte aérea e nas raízes das plantas, além de auxiliar na manutenção do potencial hídrico, no aumento do teor de água no apoplasto, na maior elasticidade da parede celular e no aumento da produção de biomassa e de grãos das plantas.

Em geral, os resultados obtidos no presente estudo indicam que o cultivo de aveia-preta IPR 61 em ambientes de baixo fornecimento de nitrogênio exógeno (0 e 50 kg N ha⁻¹), a inoculação de *A. brasilense* desempenha papel importante no crescimento, desenvolvimento e produtividade da cultura. Além disso, a utilização de altas doses de nitrogênio (100 ou 140 kg N ha⁻¹), no momento da semeadura, diminui a efetividade da bactéria na promoção do crescimento, desenvolvimento e produtividade da aveia-preta. Essas considerações são suportadas por Fu et al. (1989) que também concluíram que cultivos de espécies vegetais em solos com alta taxa de mineralização de matéria orgânica (disponibilidade de nitrogênio) ou com adição de altas doses de fertilizantes minerais diminui a atividade da nitrogenase e a efetividade da bactéria na fixação de nitrogênio e na promoção do crescimento de plantas. Além disso, Fukami et al. (2016), Fukami et al. (2017) e Galindo et al. (2020) reportaram que o uso de *Azospirillum* spp. em ambientes com baixa disponibilidade de nitrogênio promove respostas positivas de até 30% nos atributos morfofenológicos, fisiológicos e/ou produtivos dos vegetais.

Portanto, a utilização de 37,5% da dose de nitrogênio associado a inoculação das cepas AbV5 e AbV6 de *A. brasilense* na forma líquida proporciona maior efetividade da bactéria nos atributos morfofenológicos, fisiológicos e produtivos da aveia-preta IPR 61. Neste caso, a

inoculação da bactéria na semente de aveia-preta diminui a dependência de uso de altas doses de fertilizantes nitrogenados, o que reduz os custos de produção, aumenta a produtividade e a qualidade nutricional e a sustentabilidade ambiental dos sistemas de produção da cultura.

6. CONCLUSÕES

- A inoculação das cepas AbV5 e AbV6 da bactéria diazotrófica *A. brasilense* isoladamente ou em associação com diferentes doses de nitrogênio (0, 50, 100 ou 140 kg N ha⁻¹) não aumenta o número de perfilhos em plantas de aveia-preta IPR 61. No entanto, o aumento nas doses de nitrogênio proporciona um incremento na capacidade de perfilamento das plantas de aveia-preta;
- A inoculação das cepas AbV5 e AbV6 da bactéria *A. brasilense* em associação com a aplicação de 50 kg N ha⁻¹ proporciona um incremento nos atributos morfológicos (altura de planta, diâmetro de colmo, volume de raízes, massas fresca e seca de raízes e da parte aérea) das plantas de aveia-preta IPR 61 quando comparado às plantas cultivadas com a mesma dose de nitrogênio sem inoculação da bactéria.
- A inoculação das cepas AbV5 e AbV6 de *A. brasilense* em associação com a aplicação de 50 kg N ha⁻¹ acelera o crescimento/desenvolvimento fenológico inicial das plantas de aveia-preta IPR 61 em relação às plantas tratadas com a mesma dose de nitrogênio sem inoculação da bactéria.
- A utilização das cepas AbV5 e AbV6 de *A. brasilense* em associação com 0 ou 50 kg N ha⁻¹ aumenta os teores de clorofilas *a* e *total* e o conteúdo de proteína bruta nas folhas das plantas de aveia-preta IPR 61 em relação às plantas que se desenvolvem sob a mesma dose de fertilizante nitrogenado sem inoculação da bactéria.
- Plantas de aveia-preta IPR 61 cultivadas em ambientes com baixo fornecimento de nitrogênio exógeno e sem inoculação da bactéria *A. brasilense* produzem folhas de coloração verde-amareladas devido ao alto conteúdo de clorofila *b* nas células dos tecidos vegetais;
- A inoculação das cepas AbV5 e AbV6 de *A. brasilense* em associação com 0 e 50 kg N ha⁻¹ exógeno aumenta a produtividade de biomassa e de grãos da aveia-preta IPR 61;
- A utilização das cepas AbV5 e AbV6 de *A. brasilense* em associação com altas doses de nitrogênio (100 ou 140 kg N ha⁻¹) não contribui para aumentar o crescimento, desenvolvimento e produtividade das plantas de aveia-preta IPR 61.

- A utilização das cepas AbV5 e AbV6 de *A. brasilense* em associação com subdoses de nitrogênio constitui uma importante alternativa para reduzir não somente a dependência de uso de grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados para atender a demanda da cultura, mas também contribui para o estabelecimento de um sistema de produção de aveia-preta mais sustentável.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, M.V.; NESI, C.N.; NAIBO, G.; BARRETA, M.H.; LAZZARI, M.; FIORESE-JÚNIOR, A.; SKORONSKI, E. Corn seed inoculation with *Azospirillum brasilense* in different nitrogen fertilization management. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 15, n. 3, p. e8100, 2020.
- AMARANTE, C.V.T.D.; STEFFENS, C.A.; SANGOI, L.; ZANARDI, O.Z.; MIQUELOTO, A.; SCHWEITZER, C. Quantificação de clorofilas em folhas de milho através de métodos ópticos não destrutivos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 9, n. 1, p. 39-50, 2010.
- ANTONOW, D. **Determinação de caracteres associados à qualidade física e eficiência de descasque dos grãos de aveia (*Avena sativa* L.)**. 2013. 162 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Faculdade de Agronomia de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013.
- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F.D.; BORTOLINI, C.G. Clorofila na folha como indicador do nível de nitrogênio em cereais. **Ciência Rural**, v. 31, n. 4, p. 715-722, 2001.
- ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, p. 1-15, 1949.
- ATLASBIG. **World oat production by country**. Disponível em: <<https://www.atlasbig.com/en-us/countries-oat-production>>. Acesso em: 28 jun. 2022.
- 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. p. 49-59.
- BARTLETT, M.S. Properties of sufficiency and statistical tests. **Proceeding of the Royal Society A**, v. 160, n. 901, p. 268–282, 1937.
- BASSO, V.M.; TRAVI, M.R.L. Produtividade e qualidade de aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb.) sob uso de regulador de crescimento vegetal. **Anais da Agronomia**, v. 2, p. 166-189, 2021.
- BOLETA, E.H.M.; GALINDO, F.S.; JALAL, A.; SANTINI, J.M.K.; RODRIGUES, W.L.; LIMA, B.H.; ARF, O.; SILVA, M.R.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA-FILHO, M.C.M. Inoculation with growth-promoting bacteria *Azospirillum brasilense* and its effects on productivity and nutritional accumulation of wheat cultivars. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, p. 607262, 2020.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C.M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v. 30, n. 2, p. 365-372, 2000.

BRUM, M.D.S.; CUNHA, V.D.S.; MARTIN, T.N.; ALESSIO, P.G.; ALMEIDA, G.A. Black oat and ryegrass inoculated with *Azospirillum brasilense* in crop-livestock system. **Revista Caatinga**, v. 34, p. 276-286, 2021.

BULEGON, L.G.; GUIMARAES, V.F.; KLEIN, J.; BATTISTUS, A.G.; INAGAKI, A.M.; OFFEMANN, L.C.; SOUZA, A.K.P. Enzymatic activity, gas exchange and production of soybean co-inoculated with '*Bradyrhizobium japonicum*' and '*Azospirillum brasilense*'. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 7, p. 888–896, 2017.

CABEZAS, W.A.R.L.; TRIVELIN, P. C. O.; KONDÖRFER, G. H.; PEREIRA, S. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura de milho, em sistema plantio direto no Triângulo Mineiro (MG). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 2, p. 363 – 376, 2000.

CÂNDIDO, A.C.T.F.; DE CARVALHO, M.A.C.; YAMASHITA, O.M.; FELITO, R.A.; DA ROCHA, A.M. Efeito residual da coinoculação com *Azospirillum brasilense* na soja e adubação nitrogenada no teor foliar de macronutrientes em milho. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 15, n. 2, p. 279-294, 2022.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Portal de informações agropecuárias – produção agrícola**. Disponível em: <https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/safra-serie-historica-graos.html>. Acesso em: 26 jul. 2023.

CORREA-FILHO, D.V.B.; CORREIA, É.C.S.S.; DOMINGUES-NETO, F.J.; SANTOS, D.V.; SILVA, T.A.; MONTEIRO, R.N.F.; FONTANA, L.F. Crescimento e desenvolvimento de aveia preta em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada. **Colloquium Agrariae**, v. 13, n. 2, p. 1–8, 2017.

COSTA, N.R.; ANDREOTTI, M.; GAMEIRO, R.A.; PARIZ, C.M.; BUZETTI, S. LOPES, K.S.M. Adubação nitrogenada no consórcio de milho com duas espécies de braquiária em sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1038–1047, 2012.

CRUZ, N.T.; PIRES, A.J.V.; FRIES, D.D.; JARDIM, R.R.; LANA-SOUSA, B.M.; DIAS, D.L.S.; BONOMO, P.; RAMOS, B.L.P.; SACRAMENTO, M.R.S.V. Fatores que afetam as características morfogênicas e estruturais de plantas forrageiras. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. e5410716180-e5410716180, 2021.

DANIELOWSKI, R.; CARAFFA, M.; MORAES, C.S.; LÂNGARO, N.C.; CARVALHO, I.Q. (Orgs.). **Informações técnicas para a cultura da aveia**. Três de Maio: SETREM, 2021. 190p.

DE MORI, C.; NASCIMENTO-JUNIOR, A.; MIRANDA, M.Z. **Aspectos econômicos e conjunturais da cultura do centeio no mundo e no Brasil**. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2013. 27p. (DOCUMENTOS)

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **CRC Critical Review in Plant Science**, v. 22, p. 107-149, 2003.

DÖBEREINER, J. Recent changes in concepts of plant bacteria interactions: endophytic N₂ fixing bacteria. **Ciência e Cultura**, v. 44, p. 310-313, 1992.

- DOBEREINER, J.; MARRIEL, I. E.; NERY, M. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 22, n. 10, p. 1464-1473, 1976.
- DOMINGUES-NETO, F.J.; YOSHIMI, F.K.; GARCIA, R.D.; DOMINGUES, M.C.S. Influência de *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento vegetativo, produção de forragem e acúmulo de massa seca da aveia preta. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, p. 2013-2019, 2014.
- DONEDA, A.; CELSO, A.; GIACOMINI, S.J.; MIOLA, E.C.C.; GIACOMINI, D.A.; SCHIRMANN, J.; GONZATTO, R. Fitomassa e decomposição de resíduos de plantas de cobertura puras e consorciadas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 6, p. 1714-1723, 2012.
- DUN, E.A.; BREWER, P.B.; BEVERIDGE, C.A. Strigolactones: discovery of the elusive shoot branching hormone. **Trends Plant Science**, v. 14, p. 364–372, 2009.
- EPAGRI/CEPA. **Acompanhamento de safra – totais do estado**. Disponível em: <<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiZmE2ZjY1Y2MtZjdjOC00MjgyLTlhNGEtZjA4NzNkNWJlZTY4IiwidCI6ImExN2QwM2ZjLTRiYWVtNGI2OC1iZDY4LWUzOTYzYTJlYzRlNiJ9>>. Acesso em: 04 jul. 2023.
- FAOSTAT – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistical yearbook: world food and agriculture**, 2021. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/cb4477en/cb4477en.pdf>>. Acesso em: 12 mai. 2023.
- FILGUEIRAS, L.M.; MENESES, C.H. Efeito das bactérias promotoras de crescimento de plantas na proteção contra o estresse hídrico. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 11, p. 21-30, 2015.
- FLOSS, E.L. **Fisiologia das plantas cultivadas: o estudo que está por trás do que se vê**. 5 ed. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2011. 733p.
- FONTANELI, R.S.; SANTOS, H.P.; FONTANELI, R.S.; OLIVEIRA, J.T.; LEHMEN, R.I.; DREON, G. Gramíneas forrageiras anuais de inverno. In: FONTANELI, R.S.; SANTOS, H.P.; FONTANELLI, R.S. (Eds.). **Forrageiras para integração lavoura-pecuária-floresta na região sul-brasileira**. 2. ed. Passo Fundo: EMBRAPA TRIGO, 2012. Cap. 4. p. 127-172.
- FORNI, C.; DUCA, D.; GLICK, B.R. Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. **Plant Soil**, n. 410, p. 335–356, 2017.
- FU, H.A.; HARTMANN, A.; LOWERY, R.G.; FITZMAURICE, W.P.; ROBERTS, G.P.; BURRIS, R.H. Posttranslational regulatory system for nitrogenase activity in *Azospirillum* spp. **Journal of Bacteriology**, v. 171, n. 9, p. 4679-4685, 1989.
- FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, n. 73, p. 2-12, 2018a.
- FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v. 6, n. 3, p. 1-13, 2016.
- GALINDO, F.S.; BUZZETTI, S.; RODRIGUES, W.L.; BOLETA, E.H.M.; SILVA, V.M.; TAVANTI, R.F.R.; FERNANDES, G.C.; BIAGINI, A.L.C.; ROSA, P.A.L.; TEIXEIRA-FILHO, M.C.M. Inoculation of *Azospirillum brasilense* associated with silicon as a liming source to improve nitrogen fertilization in wheat crops. **Scientific Reports**, v. 10, p. 6160, 2020.
- GALINDO, F.S.; TEIXEIRA-FILHO, M.C.; BUZZETTI, S.; PAGLIARI, P.H.; SANTINI, J.M.; ALVES, C.J.; MEGDA, M.M.; NOGUEIRA, T.A.R.; ANDREOTTI, M.; ARF, O. Maize yield

response to nitrogen rates and sources associated with *Azospirillum brasilense*. **Agronomy Journal**, v. 111, n. 4, p. 1985-1997, 2019a.

GALINDO, F.S.; TEIXEIRA-FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; RODRIGUES, W.L.; SANTINI, J.M.K.; ALVES, C.J. Nitrogen fertilization efficiency and wheat grain yield affected by nitrogen doses and sources associated with *Azospirillum brasilense*. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science**, v. 69, n. 7, p. 606–617, 2019b.

GALINDO, F.S.; TEIXEIRA-FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J.M.K.; ALVES, C.J.; NOGUEIRA, L.M.; LUDKIEWICZ, M.G.Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTTE, J.L.M. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, p. e0150364, 2016.

GALINDO, F.S.; TEIXEIRA-FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J.M.K.; ALVES, C.J.; NOGUEIRA, L.M.; LUDKIEWICZ, M.G.Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTTE, J.L.M. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, p. e015036, 2016.

GOMIDE, C.A.M.; PACIULLO, D.S.C.; MARTINS, C.E. **Momento da adubação nitrogenada em pastagens intensivamente manejadas**. Juiz de Fora: Embrapa, 2020. 18p. (CIRCULAR TÉCNICA, 125).

GUIMARÃES, S.L.; MOREIRA, J.C.F.; BONFIMSILVA, E.M.; POLIZEL, A.C.; SABINO, D.C.C. Características produtivas de plantas de milho inoculadas com *Azospirillum* spp. cultivadas em Latossolo de cerrado. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 558-567, 2013.

HINSINGER, P.; BENGOUGH, A.G.; VETTERLEIN, D.; YOUNG, I.M. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. **Plant and Soil**, v. 321, n. 1-2, p. 17-152, 2009.

HOFFMAN, B.M.; DEAN, D.R.; SEEFELDT, L.C. Climbing nitrogenase: toward a mechanism enzymatic nitrogen fixation. **Accounts of Chemical Research**, v. 42, n. 5, p. 609-619, 2009.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p. (DOCUMENTOS, 325).

JOCHIMS, F.; NESI, C.N.; KAVALCO, S.A.F.; PORTES, V.M. Desempenho agronômico de genótipos crioulos de aveias forrageiras na região Oeste de SC. **Agropecuária Catarinense**, v. 30, n. 2, p. 63-68, 2017.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M.V.; FERREIRA, J.P.; DAL BEM, E.A.; PORTUGAL, J.R.; VILELA, R.G. Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 527-538, 2013.

KAPPES, C.; ARF, O.; DAL BEM, E.A.; PORTUGAL, J.R.; GONZAGA, A.R. Manejo do nitrogênio em cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, p. 201–217, 2014.

KAZI, N.; DEAKER, R.; WILSON, N.; MUHAMMAD, K.; TRETOWAN, R. The response of wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense* in the field. **Field Crops Research**, v. 196, p. 368-378, 2016.

KÖRSCHENS, M.; ALBERT, E.; ARMBRUSTER, M.; BARKUSKY, D.; BAUMECKER, M.; BEHLE-SCHALK, L.; BISCHOFF, R.; ČERGAN, Z.; ELLMER, F.; HERBST, F.; HOFFMANN, S.; HOFMANN, B.; KISMANYOKY, T.; KUBAT, J.; KUNZOVA, E.; LOPEZ-FANDO, C.; MERBACH, I.; MERBACH, W.; PARDOR, M.T.; ROGASIK, J.

RÜHLMANN, J.; SPIEGEL, H.; SCHULZ, E.; TAJNSEK, A.; TOTH, Z.; WEGENER, H.; ZORN, W. Effect of mineral and organic fertilization on crop yield, nitrogen uptake, carbon and nitrogen balances, as well as soil organic carbon content and dynamics: results from 20 European long-term field experiments of the twenty-first century. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 59, n. 8, p. 1017-1040, 2013.

KÖRSCHENS, M.; ALBERT, E.; ARMBRUSTER, M.; BARKUSKY, D.; BAUMECKER, M.; BEHLE-SCHALK, L.; HOFFMANN, S. Effect of mineral and organic fertilization on crop yield, nitrogen uptake, carbon and nitrogen balances, as well as soil organic carbon content and dynamics: results from 20 European long-term field experiments of the twenty-first century. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 59, n. 8, p. 1017-1040, 2013.

KUNRATH, T.R.; CADENAZZI, M.; BRAMBILLA, D.M.; ANGHINONI, I.; MORAES, A.; BARRO, R.S.; CARVALHO, P.C.F. Management targets for continuously stocked mixed oat × annual ryegrass pasture in a no-till integrated crop-livestock system. **European Journal of Agronomy**, v. 57, p. 71-76, 2014.

LADE, S.B.; ROMÁN, C.; CUETO-GINZO, A.I.; MANEIRO, L.; MUNOZ, P.; MEDINA, V. Root development in agronomically distinct six-rowed barley (*Hordeum vulgare*) cultivars inoculated with *Azospirillum brasilense* Sp7. **Plant Breeding**, v. 137, n. 3, p. 338 – 345, 2018.

LARGE, E.C. Growth stages in cereals. Illustration of the Feeks scale. **Plant Pathology**, v. 3, p. 128-129, 1954.

LORENZ, R.D. Electrical effects on atmospheric chemistry. **Space Science Reviews**, v. 137, n. 1-4, p. 295-299, 2008.

LUDWIG, R.L.; MARTIN, T.N.; ROCKENBACH, D.; GIACOMINI, S.; VEY, R.T. Desempenho agronômico de cultivares de trigo em resposta à inoculação (*Azospirillum brasilense*) e aplicação de nitrogênio. **Revista Caatinga**, v. 35, n. 4, p. 799-808, 2022.

LUO, L.; ZHANG, Y.; XU, G. How does nitrogen shape plant architecture? **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 15, p. 4415-4427, 2020.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição de plantas**. 6 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 631p.

MARIN, V.A.; BALDANI, V.L.D.; TEIXEIRA, K.R.S.; BALDANI, J.I. **Fixação biológica de nitrogênio: bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical**. Seropédica: EMBRAPA-CNPAB, 1999. 24p.

MATOS, F.B.; OLIVEIRA, F.F.; PIETROSKI, M.; MULLER, P.F.; TAKESHITA, V.; CAIONE, G. Uso de *Azospirillum brasilense* para o aumento da eficiência da adubação nitrogenada em milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 16, n. 1, p. 131-141, 2017.

MATTEI, E.; DRESCH, A.; DE OLIVEIRA, P.S.R.; PIANO, J.T.; SAMPAIO, M.C.; VALENTE, É.E.L. Produção de forragem, palhada e características estruturais da aveia preta conduzida em sistema de integração lavoura-pecuária. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, v. 3, p. 2054-2061, 2020.

MELO, A.V.; GALVÃO, J.C.C.; BRAUN, H.; SANTOS, M.M.; COIMBRA, R.R.; SILVA, R.R.; REIS, W.F. Extração de nutrientes e produção de biomassa de aveia-preta cultivada em solo submetido a dezoito anos de adubação orgânica e mineral. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 411-419, 2011.

- MELO, H. F. **Adubação nitrogenada e inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho**. 2014. 36 p. Trabalho de conclusão de curso (Agronomia) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.
- MENDES, M.C.; DO ROSÁRIO, J.G.; FARIA, M.V.; ZOCHE, J.C.; WALTER, A.L.B. Avaliação da eficiência agrônômica de *Azospirillum brasilense* na cultura do trigo e os efeitos na qualidade de farinha. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 4, n. 3, p. 95-110, 2011.
- MILANI, G.L.; OLIVEIRA, J.A.; SILVA, L.H.C.; PINHO, É.V.R.; GUIMARÃES, R.M. Nodulação e desenvolvimento de plantas oriundas de sementes de soja com altos teores de molibdênio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p. 19-27, 2008.
- MORAIS, T.P.; BRITO, C.H.; FERREIRA, A.S.; LUZ, J.M.Q. Aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímico do solo em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista Ceres**, v. 62, n.6, p. 589-596, 2015.
- MOREIRA, F.M.S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.
- MÜLLER, T.M.; SANDINI, I.E.; RODRIGUES, J.D.; NOVAKOWISKI, J.H.; BASI, S.; KAMINSKI, T.H. Combinação de métodos de inoculação de *Azospirillum brasiliense* com adubação nitrogenada de cobertura aumenta produtividade de milho. **Ciência Rural**, v. 46, n. 2, p. 210-215, 2016.
- MUMBACH, G.L.; KAISER, D.R.; BONFADA, É.B.; KOTOWSKI, I.E.; MALLMANN, M.S.; PORTELA, V.O. Avaliação da eficiência agrônômica de *Azospirillum brasilense* na cultura do trigo. **Anais... XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, Centro de Convenções: Natal – RN, 2015. 4p.
- MUNARETO, J.D.; MARTIN, T.N.; FIPKE, G.M.; CUNHA, V.S.; ROSA, G.B. Nitrogen management alternatives using *Azospirillum brasilense* in wheat. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, p. e00276, 2019.
- NASERI, R.; MOGHADAM, A.; DARABI, F.; HATAMI, A.; TAHMASEBEI, G.R. The effect of deficit irrigation and *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* on grain yield, yield components of maize (SC 704) as a second cropping in western Iran. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 2, n. 10, p. 104-112, 2013.
- NUNES, F.S.; RAIMONDI, A.C.; NIEDWIESKI, A.C. Fixação de nitrogênio: estrutura, função e modelagem bioinorgânica das nitrogenases. **Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 872-879, 2003.
- PANKIEVICZ, V.C.S.; AMARAL, F.P.; SANTOS, K.F.D.N.; AGTUCA, B.; XU, Y.; SCHUELLER, M.J.; ARISI, A.C.M.; STEFFENS, M.B.R.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O.; STACEY, G.; FERRIERI, R.A. Robust biological nitrogen fixation in a model grass-bacterial association. **Plant Journal**, v. 81, n. 6, p. 907-919, 2015.
- PEREIRA, L.C.; PIANA, S.C.; BRACCINI, A.L.; GARCIA, M.M.; FERRI, G.C.; FELBER, P.H.; MARTELI, D.C.V.; BIANCHESSI, P.A.; DAMETTO, I.B. Rendimento do trigo (*Triticum aestivum*) em resposta a diferentes modos de inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 1, p. 105-113, 2017.
- PICAZEVICZ, A.A.; KUSDRA, J.F.; MORENO, A.D.L. Maize growth in response to *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici*, molybdenum and nitrogen. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, p. 623-627, 2017.

- PICCININ, G.G.; BRACCINI, A.L.; DAN, L.G.M.; BAZO, G.L.; HOSSA, K.R.; PONCE, R.M. Rendimento e desempenho agrônômico da cultura do trigo em manejo com *Azospirillum brasilense*. **Revista Agrarian**, v. 6, n. 22, p. 393-401, 2013.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. 2023.
- RADWAN, T.E.E.; MOHAMED, Z.K.; REIS, V.M. Aeração e adição de sais na produção de ácido indol acético por bactérias diazotróficas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 10, p. 997-1004, 2005.
- RAFFI, M.M.; CHARYULU, P.B.B.N. *Azospirillum*-biofertilizer for sustainable cereal crop production: current status. In: BUDDOLLA, V. (Ed.). **Recent developments in applied microbiology and biochemistry**. Massachusetts: Academic Press, 2021, v. 2, p. 193-209.
- REIS, V.M.; OLIVEIRA, A.D.M.; BALDANI, V.L.D.; OLIVARES, F.L.; BALDANI, J.I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M.S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa- MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. cap. 6, p. 154-172.
- REZENDE, D.C.V.; SOUSA, F.A.; SILVA, F.B. Avaliação de parâmetros bromatológicos de milho submetido à aplicação via foliar de *Azospirillum brasilense*. **GETEC**, v. 8, n. 17, p. 110-122, 2018.
- RICHARDSON, A.D.; DUGAN, S.P.; BERLYN, G.P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. **New Phytologist**, v. 153, n. 1, p. 185–194, 2002.
- ROESCH, L.F.W.; PASSAGLIA, L.M.P.; BENTO, F.M.; TRIPLETT, E.W.; CAMARGO, F.A.O. Diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas associadas a plantas de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 1367-1380, 2007.
- ROSA, P.A.L.; MORTINHO, E.S.; JALAL, A.; GALINDO, F.S.; BUZETTI, S.; FERNANDES, G.C.; BARCO-NETO, M.; PAVINATO, P.S.; TEIXEIRA-FILHO, M.C.M. Inoculation with growth-promoting bacteria associated with the reduction of phosphate fertilization in sugarcane. **Frontiers in Environmental Science**, v. 8, p. 1–32, 2020.
- SANTI, C.; BOGUSZ, D.; FRANCHE, C. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. **Annals of Botany**, v. 111, p. 743-767, 2013.
- SANTOS, H.G.; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C.; OLIVEIRA, V.Á.; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIDA, J.A.; ARAÚJO-FILHO, J.C.; OLIVEIRA, J.B.; CUNHA, T.J.F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5ª ed. Brasília: EMBRAPA SOLOS, 2018. 356p.
- SBCS/NRS - Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/Núcleo Regional Sul. Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC. **Manual de calagem e adubação para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. Porto Alegre: SBCS/NRS, 2016. 376p.
- SCHARF, P. **Managing nitrogen in crop production**. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison-USA, 2015. 76p.
- SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3, p. 591–611, 1965.
- SIDRA - Sistema IBGE de recuperação automática. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Agricultura. **Produção agropecuária**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/>>. Acesso em: 29 jun. 2023.

- SILVA, M.A.; NASCENTE, A.S.; CRUZ, D.R.C.; DE MELLO-FRASCA, L.L.; ARRUDA, J.F.; FERREIRA, A.L.; FERREIRA, E.P.B.; LANNA, A.C.; BEZERRA, G.A.; DE FILIPPI, M.C.C. Desenvolvimento inicial de arroz de terras altas inoculado e coinoculado com rizobactérias multifuncionais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 44, n. 1, p. 273-284, 2023.
- SOUZA, E.D.; COSTA, S.E.V.G.A.; ANGHINONI, I.; CARVALHO, P.C.F.; OLIVEIRA, E.V.F.; MARTINS, A.P.; CAO, E.; ANDRIGHETTI, M. Soil aggregation in a crop-livestock integration system under no-tillage. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p. 1365-1374, 2010.
- SOUZA, S.R.; FERNANDES, M.S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M.S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa- MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. cap. 9, p. 216-245.
- STREIT, N.M.; CANTERLE, L.P.; CANTO, M.W.D.; HECKTHEUER, L.H.H. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 5th ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2010. 781p.
- TARRANT, J.J.; KRIEG, N.R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) com. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 967-980, 1978.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANT, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2 ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p. (BOLETIM TÉCNICO, 5).
- USDA. **World agricultural production**, 2023. Disponível em: <<https://www.fas.usda.gov/data/world-agricultural-production>>. Acesso em: 04 jul. 2023.
- VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M.L.; TOURAINE, B.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.; MULLER, D.; LEGENDRE, L.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; PRIGENT-COMBARET, C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, n. 356, p. 1-19, 2013.
- VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; BOYCE, A.N. Role of plant growth promoting Rhizobacteria in agricultural sustainability - a review. **Molecules**, v. 21, p. n. 573, p. 1-17, 2021.
- WHIPPS, J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 487-511, 2001.
- WORDELL-FILHO, J.A.; CHIARADIA, L.A. (Org.) **A cultura do milho em Santa Catarina**. 3. ed. Florianópolis: Epagri, 2016. 398p.
- WREGE, M.S.; STEINMETZ, S.; REISSER-JÚNIOR, C.; ALMEIDA, I.R. **Atlas climático da região sul do Brasil: estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul**. Brasília: DF, Embrapa, 2012. 334p.
- ZADOKS, J.C.; CHANG, T.T.; KONZAK, C.F.A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, v. 14, p. 415-421, 1974.