UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ANGELO RAFAEL BINI

Azospirillum brasilense, GESSO E EFICIÊNCIA DA ADUBAÇÃO NITROGENADA EM SISTEMA DE PRODUÇÃO DE GRÃOS.

PONTA GROSSA
2019

ANGELO RAFAEL BINI

Azospirillum brasilense, GESSO E EFICIÊNCIA DA ADUBAÇÃO NITROGENADA EM SISTEMA DE PRODUÇÃO DE GRÃOS.

Tese apresentada à Universidade Estadual de Ponta Grossa para a obtenção do título de Doutor em Agronomia – Área de Concentração: Agricultura.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Fávero Caires.

PONTA GROSSA
2019

Bini, Angelo Rafael
B613 *Azospirillum brasilense*, gesso e eficiência da adubação nitrogenada em sistema de produção de grãos / Angelo Rafael Bini. Ponta Grossa, 2019.
117 f.

Tese (Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Área de Concentração: Agricultura/ Uso e Manejo do Solo), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Fávero Caires.

1. Glycine max (L.). 2. Triticum aestivum (L.). 3. Fosfogesso. 4. Nitrogênio. 5. Zea mays (L.). I. Caires, Eduardo Fávero. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Agricultura/ Uso e Manejo do Solo. III.T.

CDD: 633

Ficha catalográfica elaborada por Maria Luzia Fernandes Bertholino dos Santos- CRB9/986

Universidade Estadual de Ponta Grossa

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título da Tese: **"*Azospirillum brasilense*, gesso e eficiência da adubação nitrogenada em sistema de produção de grãos".**

Nome: Angelo Rafael Bini

Orientador: Eduardo Fávero Caires

Aprovado pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Fávero Caires Profª

Drª Carolina Weigert Galvão

Dr. Gabriel Barth

Dr. Hélio Antonio Wood Joris

Dr. Marco Antonio Nogueira

Data da Realização: 12 de agosto de 2019

Aos meus pais, Angelo e Sofia

Dedico este trabalho!

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e pela constante iluminação.

Aos meus familiares, em especial aos meus pais, Angelo e Sofia, e aos meus irmãos Tarcizio e Thamiris, pelo imenso carinho, apoio e compreensão durante toda minha vida.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao meu orientador, Professor Dr. Eduardo Fávero Caires, pela orientação, pela oportunidade e confiança dada a mim na realização desse trabalho.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela dedicação ao ensino e a formação científica.

À Dirce Aparecida de Oliveira, pela amizade, carinho e auxílio na realização das análises químicas de solo e planta.

Aos funcionários da Universidade Estadual de Ponta Grossa, em especial à Jaqueline Aparecida Gonçalves, Nilcélia Alvez de Lara, Zima Richter, Hennembert e Rachel Govea da Silva por todo auxílio, apoio e amizade.

A todos os colegas da pós-graduação, pelo companheirismo e amizade que levarei por toda vida.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Fertilidade do Solo: Adriano Haliski, Danilo A. Scharr, Shivelly Los Galetto, André Auler, Allison Fornari, Lucas Tzascos, Felipe B. Moreira, Daniel Moreira, Alan Jean de Oliveira, Vanderson Duart, Bernardo Moers, Ana claudia lubczyk, Joyce Kufta, Grazielle schornobai, Kaynnã Ricardo, Leonardo Barão, Lucas Polli, Laura Beatriz e Gabriel Soares pela gra amizade, companheirismo e auxílio na realização desse trabalho.

Ao Senhor Lucio Miranda, proprietária da Fazenda Santa Cruz, por ceder a área para realização do experimento.

Aos funcionários da Fazenda Santa Cruz, em especial o Senhor José Amilton, pelo auxilio na implantação e condução da área experimental.

E a todas as pessoas que não foram citadas, mas que foram fundamentais no desenvolvimento desse trabalho.

“Descobrir consiste em olhar para o que todo mundo está vendo e pensar uma coisa diferente”

(Roger Von Oech)

“A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido e não na vitória propriamente dita”

(Mahatma Gandhi)

RESUMO

O fornecimento adequado de nitrogênio (N) é fundamental para a obtenção de altos rendimentos de grãos. A dinâmica do N nos sistemas agrícolas é bastante complexo, estando intimamente relacionado com os teores de matéria orgânica, aos micro organismos do solo e a disponibilidade de outros nutrientes. Apesar da grande importância para o crescimento vegetal, a utilização de elevadas doses de N pode reduzir a eficiência na utilização do N e causar problemas de contaminação ambiental. O fornecimento de N via fixação biológica é bem difundida na cultura da soja, mas esse processo sofre uma redução na fase reprodutiva da cultura, o que tem gerado duvidas sobre os possíveis benefícios a aplicação de N após o florescimento. O fornecimento de N com o uso bactérias diazotróficas na cultura do milho e do trigo pode contribuir para o amento da eficiência da adubação nitrogenada pelas culturas de milho e trigo, para a cultura da soja o uso de tais micro organismos juntamente com o *Bradyrhizobium japonicum* também ganhado destaque. Outra forma que aumentar a eficiência da adubação nitrogenada é o fornecimento adequado de outros nutrientes em especial o enxofre (S). Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar (i) as alterações químicas do solo após a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem uso de gesso e a aplicação de nitrogênio em cobertura e (ii) a nutrição das plantas, a produtividade e nutrição de grãos, a extração de nutrientes nas culturas de milho, trigo e soja, e a eficiência de uso do N nas culturas de milho e trigo em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, uso de gesso e da adubação nitrogenada em cobertura. O experimento foi realizado em Ponta Grossa (PR), em um Latossolo Vermelho distrófico textura muito argilosa há 34 anos sob plantio direto. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, em parcelas subdivididas, com três repetições. Nas parcelas, foram empregados os tratamentos sem inoculação, com inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e com inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* + gesso, as sementes de milho e trigo foram inoculadas pouco antes da semeadura e as sementes de soja foram inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum*, sendo parte co-inoculadas com *Azospirillum brasilense*. O gesso foi aplicado na instalação do estudo em 2012, sendo utilizada a dose de 2,7 t ha^{-1}, visando a manutenção de altos níveis de Sulfato no solo. Nas subparcelas, foram aplicadas três doses de N em cobertura, na forma de ureia, nas culturas de milho (0, 80, 160 kg ha^{-1}), trigo (0, 40, 80 kg ha^{-1}) e soja (0, 25, 50 kg ha^{-1}). O milho foi cultiva após aveia preta nas safras 2012-2013 e 2014-2015, o trigo foi cultivado após o milho em 2013 e 2015 e após a soja em 2016, a soja foi cultivada após o trigo na safra 2013-2014, 2015-2016 e 2016-2017. A inoculação das sementes de milho, trigo e soja com *Azospirillum brasilense* em sistema plantio direto de longa duração não alterou os atributos químicos do solo e os teores de C e N. O uso de gesso agrícola aumentou os teores de sulfato no perfil do solo (0-60 cm) e os níveis de P e Ca na camada superficial do solo (0-10 cm). Sucessivas aplicações de N via ureia em cobertura ocasionaram acidificação na camada superficial do solo (0-10 cm). A inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense*, com ou sem o uso de gesso, não proporcionou alterações relevantes na nutrição das plantas, e não alterou a produtividade de grãos e a eficiência da adubação nitrogenada. A dose de N recomendada para a cultura do milho não deve ser reduzida com a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* em ambiente de alto rendimento de grãos sob plantio direto. A cultura do trigo foi mais responsiva à inoculação com *Azospirillum brasilense* e ao uso de gesso como fonte de S, apresentando respostas na nutrição da planta, na produtividade e na eficiência da

adubação nitrogenada. A inoculação das sementes de trigo com *Azospirillum brasilense* possibilitou reduzir a dose de N para ½ da dose recomendada em cobertura com aumento nos tetos de rendimento de grãos, especialmente quando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* foi associada ao uso de gesso agrícola. A inoculação das sementes de soja com de *Bradyrhizobium japonicum* foi capaz de suprir a demanda de N pela cultura da soja em ambiente com alto potencial de rendimento de grãos. A co-inoculação das sementes de soja com *Azospirillum brasilense*, com ou sem o uso de gesso agrícola, não alterou de forma relevante a nutrição da planta e não ocasionou benefícios no rendimento de grãos, proporcionando efeito negativo e ausência de efeito na produtividade, com as doses de 3,5 e 2,0 mL kg^{-1} de sementes de inoculante, respectivamente. A adubação nitrogenada tardia na fase reprodutiva da cultura da soja demonstrou ser uma prática desnecessária e totalmente dispensável em ambiente de alto rendimento de grãos sob plantio direto.

Palavras-Chave: *Zea mays* (L.), *Glycine max* (L.), *Triticum aestivum* (L), Fosfogesso, Nitrogênio.

ABSTRACT

Adequate nitrogen (N) supply is essential for high grain yields. The dynamics of N in agricultural systems is quite complex, being closely related to the contents of organic matter, soil microorganisms and the availability of other nutrients. Even though great importance for plant growth, the use of high doses of N can reduce the efficiency of N use and cause problems of environmental contamination. N supply by biological fixation is widespread in soybean crop, but this process suffers a reduction in the reproductive phase of the crop, which has raised doubts about the possible benefits of N application after flowering. The supply of N using diazotrophic bacteria in maize and wheat can contribute to increase the efficiency of nitrogen fertilization by maize and wheat crops, for soybeans crop the use of such microorganism together with *Bradyrhizobium japonicum* also gained prominence. Another way to increase the efficiency of nitrogen fertilization is the adequate supply of other nutrients especially sulfur (S). The objective of this research was to evaluate (i) soil chemical changes after seed inoculation with *Azospirillum brasilense* with and without gypsum and nitrogen application in cover and (ii) plant nutrition, yield and yield. grain nutrition, nutrient extraction in corn, wheat and soybean crops, and N use efficiency in corn and wheat crops as a function of seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, gypsum use and topdressing nitrogen fertilization. The experiment was carried out in Ponta Grossa (PR), in a very clayey dystrophic oxisol 34 years ago under no-tillage. The experimental design was randomized blocks in split plots with three replications. In the plots, the treatments were inoculated no inoculation seed, seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and seed inoculation with *Azospirillum brasilense* + gypsum, corn and wheat seeds were inoculated shortly before sowing and soybean seeds were inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* being part co-inoculated with *Azospirillum brasilense*. Gypsum was applied at the study site in 2012, using 2.7 t ha^{-1} dose, to maintain high levels of sulfate in the soil. In the subplots, three doses of N in the form of urea were applied to maize (0, 80, 160 kg ha^{-1}), wheat (0, 40, 80 kg ha^{-1}) and soybean (0, 25, 50 kg ha^{-1}). Corn was grown after black oats in the 2012-2013 and 2014-2015 crops, wheat was grown after corn in 2013 and 2015 and after soybeans in 2016, soybean was grown after wheat in the 2013-2014, 2015- 2016 and 2016-2017. Inoculation of corn, wheat and soybean seeds with *Azospirillum brasilense* in a long-term no-tillage system did not change the chemical attributes of the soil and the levels of C and N. The use of agricultural gypsum increased the sulfate content of the soil profile (0-60 cm) and P and Ca levels in the topsoil (0-10 cm). Successive applications of N by urea on cover caused acidification in the soil surface layer (0-10 cm). Inoculation of corn seeds with *Azospirillum brasilense*, with or without the use of gypsum, didn`t provide significant changes in plant nutrition, nor did it affect grain yield and nitrogen fertilization efficiency. The recommended N rate for maize should not be reduced by seed inoculation with *Azospirillum brasilense* in a high grain yield environment under no-tillage. Wheat crop was more responsive to inoculation with *Azospirillum brasilense* and to the use of gypsum as source of S, presenting responses in plant nutrition, productivity and nitrogen fertilization efficiency. The inoculation of wheat seeds with *Azospirillum brasilense* allowed to reduce the N dose to ½ of the recommended dose in cover with increased grain yield ceilings, especially when seed inoculation with *Azospirillum brasilense* was associated with the use of agricultural gypsum. Inoculation of soybean seeds with *Bradyrhizobium japonicum* was able to supply the N demand for soybean crop in environment with high grain yield potential. The co-inoculation of the soybean seeds with *Azospirillum brasilense*, with or without the use of agricultural gypsum, did not significantly affect the plant nutrition and did not cause benefits in

grain yield, providing negative effect and no effect on yield doses of 3,5 and 2,0 mL kg^{-1} of inoculant seeds, respectively. Late nitrogen fertilization in the reproductive phase of soybean proved to be an unnecessary and totally unnecessary practice in a high grain yield environment under no-tillage.

Keywords: *Zea mays* (L.), *Glycine max* (L.), *Triticum aestivum* (L.), Phosphogypsum, Nitrogen.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Produtividade de grãos de milho considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso, nas safras de 2012-2013 (A), 2014-2015 (C) e 2012-2013 + 2014-2015 (E), e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura, nas safras de 2012-2013 (B), 2014-2015 (D) e 2012-2013 + 2014-2015 (F), em sistema plantio direto. Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a *P* = 0,05. SA: Sem *Azospirillum*, CA: Com *Azospirillum*; CA + G: Com *Azospirillum* e gesso. 66

FIGURA 2 - Produtividade de grãos de trigo na safra de 2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso (A) e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura (B) no sistema plantio direto. Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a *P* = 0,05. SA: Sem *Azospirillum*, CA: Com *Azospirillum*; CA + G: Com *Azospirillum* e gesso. 81

FIGURA 3 - Produtividade de grãos de trigo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso nas safras de 2015 (A) e 2016 (C), e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura nas safras de 2015 (B) e 2016 (D), no sistema plantio direto. Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a *P* = 0,05. SA: Sem *Azospirillum*, CA: Com *Azospirillum*; CA + G: Com *Azospirillum* e gesso. 82

FIGURA 4 - Produtividade acumulada de grãos de trigo nas safras de 2013 e 2016, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso (A) e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura (B) no sistema plantio direto. Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a *P* = 0,05. SA: Sem *Azospirillum*, CA: Com *Azospirillum*; CA + G: Com *Azospirillum* e gesso. 83

FIGURA 5 - Produtividade de grãos soja, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso nas safras de 2013-2014 (A), 2015-2016 (C), 2016-2017 (E) e 2013-2014 + 2015-2016 + 2016-2017 (G), e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura nas safras de 2013-2014 (B), 2015-2016 (D), 2016-2017 (F) e 2013-2014 + 2015-2016 + 2016-2017 (H), no sistema plantio direto. Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a *P* = 0,05. SA: Sem *Azospirillum*, CA: Com *Azospirillum*; CA + G: Com *Azospirillum* e gesso. 97

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Principais compostos nitrogenados e suas funções na planta. Adaptado de Malavolta e Morais (2007). 23

TABELA 2 - Eficiência na utilização do nitrogênio na cultura de milho e trigo. Adaptado de Ladha et al. (2005). 29

TABELA 3 - Resultados de análises químicas e granulométricas do solo, em diferentes profundidades, antes da instalação do experimento. 39

TABELA 4 - Precipitação pluvial mensal da região de Ponta Grossa (média de 47 anos) e precipitação pluvial mensal ocorrida durante a realização do experimento. 40

TABELA 5 - Valores de pH e teores de Al, Ca, Mg e K nas camadas de 0-10 e 10-20 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em junho de 2013. 48

TABELA 6 - Desdobramento da interação para os teores de Ca na camada de 0-10 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em junho de 2013. 49

TABELA 7 - Teores de P (Mehlich 1), $S\text{-}SO_4^{2-}$ (fosfato de cálcio), C orgânico e N total nas camadas de 0-10 e 10-20 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em junho de 2013. 50

TABELA 8 - Valores de pH e teores de Al, Ca, Mg e K nas camadas de 20-40 e 40-60 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em junho de 2013. 51

TABELA 9 - Teores de P (Mehlich 1), $S\text{-}SO_4^{2-}$ (fosfato de cálcio), C orgânico e N total nas camadas de 20-40 e 40-60 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em junho de 2013. 52

TABELA 10 - Valores de pH e teores de Al, Ca, Mg e K nas camadas de 0-10 e 10-20 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em maio de 2016. 54

TABELA 11 - Teores de P (Mehlich 1), $S\text{-}SO_4^{2-}$ (fosfato de cálcio), carbono orgânico particulado (COP), carbono orgânico associado aos minerais (COAM), nitrogênio particulado (NP) e nitrogênio associado aos minerais (NAM), nas camadas de 0-10 e 10-20 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo coletadas em maio de 2016. 55

TABELA 12 - Valores de pH e teores de Al, Ca, Mg e K nas camadas de 20-40 e 40-60 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo coletadas em maio de 2016. 56

TABELA 13 - Teores de P (Mehlich 1), $S\text{-}SO_4^{2-}$ (fosfato de cálcio), carbono orgânico particulado (COP), carbono orgânico associado aos minerais (COAM), nitrogênio particulado (NP) e nitrogênio associado aos minerais (NAM), nas camadas de 20-40 e 40-60 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em maio de 2016. 57

TABELA 14 - Concentrações de nutrientes nas folhas de milho nas safras de 2012-2013 e 2014-2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 59

TABELA 15 - Desdobramento da interação para os teores de P nas folhas de milho na safra de 2012-2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 60

TABELA 16 - Desdobramento da interação para os teores de S nas folhas de milho na safra de 2012-2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 60

TABELA 17 - Extração de nutrientes pela cultura do milho nas safras de 2012-2013 e 2014-2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 62

TABELA 18 - Desdobramento da interação para a extração de N pela parte aérea da cultura do milho na safra de 2012-2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 63

TABELA 19 - Desdobramento da interação para a extração de Ca pela parte aérea da cultura do milho na safra de 2012-2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 64

TABELA 20 - Concentrações de nutrientes nos grãos de milho nas safras de 2012-2013 e 2014-2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 68

TABELA 21 - Desdobramento da interação para os teores de S nos grãos de milho na de safra 2012-2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 69

TABELA 22 - Eficiência agronômica (EA) e fator parcial de produtividade do N (FPP_N) para a cultura do milho nas safras de 2012-2013 e 2014-2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 71

TABELA 23 - Concentrações de nutrientes nas folhas de trigo nas safras de 2013 e 2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 74

TABELA 24 - Concentrações de nutrientes nas folhas de trigo na safra de 2016, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 75

TABELA 25 - Extração de nutrientes pela cultura do trigo nas safras de 2013 e 2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 77

TABELA 26 - Desdobramento da interação para a extração de N pela cultura do trigo na safra de 2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 79

TABELA 27 - Extração de nutrientes pela cultura do trigo na safra de 2016, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 79

TABELA 28 - Desdobramento da interação para a extração de S pela cultura do trigo na safra de 2016, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 80

TABELA 29 - Concentrações de nutrientes nos grãos de trigo nas safras 2013 e 2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 85

TABELA 30 - Concentrações de nutrientes nos grãos de trigo na safra de 2016, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 86

TABELA 31 - Desdobramento da interação para os teores de N nos grãos de trigo na safra de 2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 86

TABELA 32 - Eficiência agronômica (EA) e fator parcial de produtividade do N (FPP_N) para a cultura do trigo nas safras de 2013 e 2016, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 87

TABELA 33 - Desdobramento da interação para eficiência agronômica (EA) do trigo na safra de 2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 88

TABELA 34 - Desdobramento da interação para o fator parcial de produtividade do N (FPP_N) do trigo na safra de 2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 89

TABELA 35 - Concentrações de nutrientes nas folhas de soja nas safras de 2013-2014, 2015-2016 e 2016-2017, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso no sistema plantio direto. 90

TABELA 36 - Extração de nutrientes pela cultura da soja nas safras de 2013-2014 e 2015-2016, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 92

TABELA 37 - Extração de nutrientes pela cultura da soja na safra de 2016-2017, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 93

TABELA 38 - Desdobramento da interação para a extração de N pela cultura da soja na safra de 2013-2014, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 94

TABELA 39 - Desdobramento da interação para a extração de K pela cultura da soja na safra de 2013-2014, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 94

TABELA 40 - Desdobramento da interação para a extração de Ca pela cultura da soja na safra de 2013-2014, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 94

TABELA 41 - Desdobramento da interação para a extração de Mg pela cultura da soja na safra de 2013-2014, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 95

TABELA 42 - Desdobramento da interação para a extração de S pela cultura da soja na safra de 2013-2014, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 95

TABELA 43 - Concentrações de nutrientes nos grãos de soja nas safras de 2013-2014 e 2015-2016, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 99

TABELA 44 - Concentrações de nutrientes nos grãos de soja na safra de 2016-2017, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. 100

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 18

2 REVISÃO DE LITERATURA 21

2.1 SISTEMA PLANTIO DIRETO 21

2.2 NITROGÊNIO 21

2.2.1 Nitrogênio no Solo 21

2.2.2 Nitrogênio na Planta 23

2.2.3 Adubação Nitrogenada 24

2.2.4 Adubação Nitrogenada nas Culturas de Milho e Trigo..... 25

2.2.5 Adubação Nitrogenada na Cultura da Soja 27

2.3 EFICIÊNCIA NA UTILIZAÇÃO DO NITROGÊNIO 28

2.4 ENXOFRE 30

2.4.1 Enxofre no Solo 30

2.4.2 Enxofre na Planta 32

2.4.3 Fornecimento de Enxofre as Culturas 32

2.5 Fixação Biológica De Nitrogênio 34

2.6 INOCULAÇÃO DE MILHO E TRIGO 35

2.7 INOCULAÇÃO E CO-INOCULAÇÃO EM SOJA 36

3 MATERIAL E MÉTODOS 39

3.1 LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO 39

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO SOLO 39

3.3 MANEJO DO SOLO E SUCESSÃO DE CULTURAS 39

3.4 CARACTERIZAÇÃO CLIMÁTICA 40

3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 40

3.6 INOCULAÇÃO DAS SEMENTES 41

3.7 GESSO AGRÍCOLA 41

3.8 ADUBAÇÃO NITROGENADA 41
3.9 CULTURA DO MILHO 42
3.10 CULTURA DO TRIGO 43
3.11 CULTURA DA SOJA 44
3.12 AMOSTRAGEM E ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO 45
3.13 ANÁLISES ESTATÍSTICAS 46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 47
4.1 ATRIBUTOS QUÍMICOS DO SOLO 47
4.2 CULTURA DO MILHO 58
4.2.1 Teores de Nutrientes nas Folhas de Milho 58
4.2.2 Extração de Nutrientres pela Cultura do Milho 61
4.2.3 Produtividade de Grãos de Milho 64
4.2.4 Teores de Nutrientes nos Grãos de Milho 67
4.2.5 Eficiencia na Utilização do Nitrogênio pelo Milho 70
4.3 CULTURA DO TRIGO 72
4.3.1 Teores de Nutrientes nas Folhas de Trigo 72
4.3.2 Extração De Nutrientres Pela Cultura Do Trigo 76
4.3.3 Produtividade de Grãos de Trigo 80
4.3.4 Teores de Nutrientes nos Grãos de Trigo 84
4.3.5 Eficiencia na Utilização do Nitrogênio pelo Trigo 87
4.4 CULTURA DA SOJA 89
4.4.1 Teores de Nutrientes nas Folhas de Soja 89
4.4.2 Extração de Nutrientres pela Cultura da Soja 91
4.3 Produtividade de Grãos de Soja 95
4.4.4 Teores de Nutrientes nos Grãos de Soja 98
5 CONCLUSÕES 101
REFERÊNCIAS 102

1 INTRODUÇÃO

O sistema plantio direto (SPD) com rotação diversificada de culturas tem sido considerado uma das estratégias mais eficientes para melhorar a sustentabilidade da agricultura em regiões tropicais e subtropicais. Nesse sistema, consideráveis aumentos nos conteúdos de carbono (C) e nitrogênio (N) têm ocorrido, principalmente nas camadas superficiais do solo, em decorrência da deposição de resíduos de plantas e da ausência de revolvimento. O aumento no conteúdo de matéria orgânica do solo resulta em aumento na capacidade de troca de cátions e na atividade biológica. O SPD foi introduzido no Brasil pelo Estado do Paraná no início da década de 1970 e, atualmente, tem sido adotado pelas principais regiões produtoras de grãos do país. Na região Centro-Sul do Paraná, as principais culturas comerciais cultivadas nesse sistema são milho, trigo e soja.

Os cereais são a principal fonte de alimento para humanos e animais, além de serem amplamente utilizados como matéria prima na indústria e na produção de combustíveis. A produção brasileira de milho na safra 2018-2019 deve atingir 98,5 milhões de toneladas, com produtividade média de 5709 kg ha^{-1}. No Estado do Paraná, a produção estimada é de 16,85 milhões de toneladas, com produtividade média 6462 kg ha^{-1}, colocando o Paraná como o segundo maior produtor de milho, ficando atrás apenas do Mato Grosso. Para o trigo, a safra brasileira em 2019 deve produzir 5,49 milhões de toneladas e a produtividade deve atingir 2748 kg ha^{-1}. A safra paranaense é estimada em 2,75 milhões de toneladas, com produtividade de 2729 kg ha^{-1}, sendo o Paraná o maior produtor desse cereal no Brasil (CONAB, 2019).

A soja, atualmente, é o principal produto do agronegócio brasileiro, trazendo bilhões de reais à economia brasileira devido à sua exportação direta ou em produtos em que é fundamental na produção como, por exemplo, a carne bovina, suína e de aves. A produção brasileira de soja na safra 2018-2019 atingiu 115 milhões de toneladas, sendo considerada a segunda maior safra da história, com produtividade de 3207 kg ha^{-1}. A produção paranaense foi de 16,25 milhões de toneladas, com produtividade de 2989 kg ha^{-1} (CONAB, 2019). Apesar da grande importância dessas culturas para a agricultura brasileira e paranaense, a produtividade média ainda se encontra bem abaixo do potencial de rendimento das culturas.

Um dos fatores que mais tem limitado e encarecido a produção das culturas de milho e trigo é o fornecimento inadequado de nitrogênio (N). Com o desenvolvimento de genótipos mais produtivos e devido à ausência de recomendações de adubação adequadas para obtenção de altas produtividades, levando em consideração as características de solo e clima de cada

região, doses inadequadas de N vêm sendo utilizadas, levando à redução da rentabilidade das culturas em decorrência do aumento do custo de produção ou obtenção de baixas produtividades. Além disso, a utilização de doses de N acima da ideal para as culturas representa alto risco ao ambiente, o que leva à insustentabilidade econômica e ambiental do sistema de produção.

A cultura da soja normalmente não necessita de adubação nitrogenada pelo fato de apresentar alta eficiência na simbiose com o *Bradyrhizobium japonicum*, o que garante o fornecimento de N via fixação biológica (FBN). Entretanto, como a FBN perde sua eficiência após o florescimento da cultura, a aplicação de N na fase reprodutiva da cultura pode trazer benefícios à nutrição das plantas e aumentar a produtividade, especialmente em ambientes com alto potencial de rendimento de grãos.

A eficiência na utilização do N aplicado nos cereais pode ser melhorada por meio da inoculação das sementes com microrganismos capazes de realizar a FBN, e do fornecimento de outros nutrientes de forma balanceada. Para as culturas de milho e trigo, estudos têm demonstrado eficiência de bactérias do gênero *Azospirillum*, principalmente *A. brasilense*, especialmente em ambientes com baixos tetos de produtividade de grãos. A eficiência da inoculação com estirpes dessa bactéria em ambientes com alto rendimento de grãos ainda é pouco conhecida, necessitando de novos estudos. Para a cultura da soja, estudos têm demonstrado resultados promissores da co-inoculação de *A. brasilense* em sementes inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum*. Todavia, os efeitos da co-inoculação de *A. brasilense* em ambientes com alto potencial de rendimento de grãos precisam também ser mais bem estudados.

A eficiência da adubação nitrogenada em cereais pode também ser aumentada com o fornecimento adequado de outros nutrientes, em especial o enxofre (S). O N e o S são constituintes de proteínas, sendo necessária a manutenção de um relação N:S entre 8:1 e 15:1 na planta para o adequado desenvolvimento. Além do estar diretamente relacionado ao metabolismo do N, o S também é corresponsável pela maximização da FBN através da sua participação na ferrodoxina. Sendo assim, é possível que o fornecimento adequado de S potencialize a eficiência de uso do N em cereais.

Apesar da sua importância para o desenvolvimento das culturas, o fornecimento de S muitas vezes é negligenciado por causa da utilização generalizada de fontes de N, P e K de alta concentração que não contém S em sua composição. O gesso agrícola ($CaSO_4.2H_2O$), um subproduto da produção de fertilizantes fosfatados concentrados, é uma excelente alternativa para o fornecimento de S às culturas, considerando o uso generalizado de fontes N, P e K de

alta concentração. A utilização de gesso agrícola pode aumentar a sustentabilidade da agricultura, pois através da utilização de um resíduo industrial é possível aumentar a eficiência da adubação nitrogenada, uma prática que, se mal executada, pode trazer consequências ao ambiente.

Com a hipótese de que a inoculação de *A. brasilense* e o fornecimento de S por meio do uso de gesso agrícola aumentam a eficiência de uso do N nas culturas de milho e trigo, e que a co-inoculação de *A. brasilense* em sementes de soja inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* associada com o fornecimento de S via gesso agrícola potencializa a FBN e a produtividade da soja, em ambiente com alto potencial de rendimento de grãos sob SPD de longa duração, o presente trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar (i) as alterações químicas do solo em função da inoculação das sementes com *A. brasilense* na ausência e presença de gesso agrícola e da aplicação de nitrogênio em cobertura e (ii) a nutrição das plantas, a produtividade e a composição de nutrientes nos grãos das culturas de milho, trigo e soja considerando a inoculação das sementes de milho e trigo e a co-inoculação das sementes de soja com *A. brasilense*, a adição de gesso agrícola e a adubação nitrogenada em cobertura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SISTEMA PLANTIO DIRETO

A produção brasileira de grãos teve um grande incremento em área e produtividade durante o século XX. Entretanto, essa expansão agrícola foi baseada em técnicas utilizadas em países de clima temperado, sendo normalmente necessária uma intensa mobilização do solo para promover o seu aquecimento e o desenvolvimento adequado das culturas. Entretanto, como nas principais regiões produtoras brasileiras ocorrem temperaturas mais elevadas associadas à altas precipitações pluviais, essa técnica pode ocasionar diversos problemas. Dessa forma, a partir do início da década de 1970, os sistemas de produção começaram a ser modificados no Estado do Paraná com a introdução do sistema plantio direto (SPD), buscando minimizar as perdas de solo e nutrientes por erosão (MUZILLI, 1981). A adoção desse sistema apresentou grande aumento em área cultivada no Brasil a partir da década de 1990. Atualmente, cerca de 33 milhões de hectares têm sido manejados em SPD na agricultura brasileira (FEBRAPDP, 2018), colocando o Brasil, juntamente com os Estados Unidos da América (EUA) e a Argentina, como líderes na adoção desta técnica conservacionista.

Com a utilização do SPD por um número cada vez maior de produtores e a estabilização do sistema, iniciaram-se questionamentos sobre a utilização mais adequada de fertilizantes, tendo em vista as mudanças na dinâmica dos nutrientes ocorridas em função do não revolvimento do solo e do aumento gradual do teor de matéria orgânica, a qual pode fornecer quantidades significativas de nutrientes como nitrogênio (N) e enxofre (S) por meio de sua mineralização (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010). Com isso, readequações nas recomendações de adubação têm sido realizadas para o plantio direto, uma vez que estas eram realizadas pelos mesmos critérios adotados para o sistema convencional de preparo do solo que, na maioria das vezes, eram insatisfatórias (SÁ, 1999).

2.2 NITROGÊNIO

2.2.1 Nitrogênio no Solo

A absorção de N pelas plantas pode ocorrer por meio da fixação biológica do N_2 (SCHLESINGER, 1997), da deposição atmosférica (CONCEIÇÃO et al., 2011), da mineralização da matéria orgânica do solo (SOUZA e MELO, 2000) e da fertilização

nitrogenada. Nos solos, a quantidade de N total varia entre 0,05% e 0,5%, sendo que normalmente mais de 95% do N total está na forma orgânica, a qual apesar de ser o maior reservatório, não é diretamente aproveitada pelas plantas (WHIETHÖLTER, 2000). O N é o principal nutriente mineral da matéria orgânica, compreendendo cerca de 5% da mesma (VITTI e HEIRINCHS, 2007).

A mineralização é um processo microbiológico que consiste na conversão do N orgânico para N mineral na sua forma amoniacal ($N\text{-}NH_4^+$). Tal processo é influenciado por diversos fatores, tais como: relação carbono/nitrogênio (C/N) dos resíduos culturais (SIQUEIRA NETO et al., 2010), tipo de solo (ERNANI et al., 2005), umidade, aeração e temperatura do solo (SIERRA & MARBÁN, 2000). Tal processo ocorre simultaneamente com a imobilização que é a remoção do N mineral do solo pelos microrganismos decompositores durante a sua multiplicação, crescimento e manutenção. Dependendo da intensidade de cada processo, pode-se ter como resultado líquido a mineralização ou a imobilização do N (SÁ et al., 2007).

O NH_4^+ proveniente da mineralização ou dos fertilizantes nitrogenados pode ser absorvido pelas plantas ou, por apresentar carga positiva, pode ser retido nos coloides do solo, apresentando pequena mobilidade. Porém, o NH_4^+ em condições aeróbicas e de pH (H_2O) em torno de 6,5 é rapidamente convertido em NO_3^-. Tal processo denominado nitrificação é mediado por um grupo específico de bactérias que oxidam o NH_4^+ em nitrito (NO_2^-) e, posteriormente, em nitrato (NO_3^-) (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010).

A nitrificação do íon NH_4^+ gera prótons H^+ que passam a ocupar os sítios de troca nos materiais coloidais, liberando cátions básicos. O NO_3^-, por apresentar carga negativa, pode se ligar a esses cátions, formando complexos que podem ser lixiviados, acidificando o solo (RAIJ, 1991; SOUSA et al., 2007). Todavia, esse mesmo processo pode melhorar a distribuição dos nutrientes no perfil do solo, ocasionando elevação no pH das camadas mais profundas (QUAGGIO, 2000).

Em ambientes deficientes em O_2, como em solos inundados, em microssítios no interior de agregados ou em solos altamente compactados e úmidos, o NO_3^- pode apresentar desnitrificação. Cantarella (2007) definiu a desnitrificação como um processo em que bactérias facultativas utilizam óxidos de N como receptores finais de elétrons [$2NO_3^- + 5H_2 + 2H^+ \rightarrow N_2 + H_2O$], sendo o principal processo biológico pelo qual o N reativo retorna à atmosfera na forma de N_2. Segundo Aita e Giacomini (2007), antes da formação do N_2 ocorre a formação de gases intermediários de N, com destaque para o óxido nitroso (N_2O), cuja emissão na atmosfera afeta a camada de ozônio, além de provocar efeito estufa cerca de 300

vezes maior que o CO_2. Dessa forma, apesar de a desnitrificação ser um processo natural e fundamental para o ciclo do N, o mesmo acarreta sério empecilho para a sustentabilidade econômica e ambiental dos sistemas agrícolas.

2.2.2 Nitrogênio na Planta

Entre todos os nutrientes fornecidos via adubação, o N foi o primeiro a ter sua essencialidade estabelecida (MALAVOLTA, 1980). O N é o nutriente requerido em maior quantidade pelas plantas, sendo um dos mais importantes para a obtenção de altas produtividades (PAULETTI, 2000). Os compostos nitrogenados são fundamentais para a germinação de sementes e brotação de estacas, fotossíntese, ativação e regulação de processos metabólicos, florescimento e maturação de frutos (Tabela 1) (MALAVOLTA e MORAES, 2007).

Segundo Barber (1966) citado por Malavolta (2006), o N é absorvido por fluxo de massa e difusão radicular, sendo que aproximadamente 99% ocorrem pela primeira rota. Portanto, a sua entrada na planta é altamente dependente da evapotranspiração da cultura (FANCELLI e TSUMANUMA, 2007). Além da dependência da movimentação da água no sistema solo-planta-atmosfera, a absorção de N apresenta interação sinérgica com outros nutrientes como S, cálcio (Ca), magnésio (Mg), zinco (Zn), cobre (Cu) e manganês (Mn), e antagônica com boro (B) (MALAVOLTA e MORAES, 2007).

TABELA 1. Principais compostos nitrogenados e suas funções na planta. Adaptado de Malavolta e Morais (2007).

Composto	**Função**
Aminoácidos	Proteínas
Amidas	Entrada de N reduzido
Ureídeos	Transporte
Poliaminas	Fonte endógena de NH_3
Proteínas	Reservas, enzimas
Ácido indolilaético	Hormônio (auxina)
Clorofila	Fotossíntese
Leghemoglobina	Fixação biológica de nitrogênio (FBN)
Coenzimas	Absorção iônica, vários processos
Nucleotídeos	RNA e DNA
Pigmentos	Varias funções

A quantidade de N absorvida varia consideravelmente durante o ciclo da cultura. Geralmente, o incremento na quantidade de N absorvida pelas plantas ocorre de forma gradual durante a fase vegetativa, alcança o máximo durante o florescimento e cai durante a fase de enchimento dos grãos (CREGAN e BERKUM, 1984). Todavia, a diminuição na absorção de N durante essa fase geralmente não prejudica a produtividade das culturas, pois o N é altamente móvel na planta (MALAVOLTA, 1997). Dessa forma, até 77% do N presente nos grãos de milho é originário da translocação de outras partes da planta (FERNANDES et al., 1999).

2.2.3 Adubação Nitrogenada

O fornecimento de N via fertilizantes é fundamental para a obtenção de altas produtividades de grande parte das culturas devido à sua alta demanda pelas culturas, à sua pequena quantidade na maioria dos solos agrícolas e à sua constante mudança de estado.

A utilização de fertilizantes nitrogenados minerais teve início na década de 1940 e se expandiu rapidamente na década de 1960 com a revolução verde (LADHA et al., 2005). Atualmente, o N é o fertilizante mais consumido no mundo, com uma demanda de aproximadamente 105,2 milhões de toneladas (Mt) e crescimento anual superior a 2%, sendo o Brasil responsável por apenas 3,8% da demanda global de N (IFA, 2014). Quando se considera a área agrícola mundial, o consumo médio é de 50 kg ha^{-1} de N (SMIL, 1999).

No Brasil, o N foi o nutriente que apresentou maior aumento de utilização, passando de 14,2 mil toneladas em 1950 para 4,60 milhões toneladas em 2017, o que corresponde a um aumento de 324 vezes (IPNI, 2017). Mesmo assim, o consumo de P_2O_5 (5,39 milhões de toneladas) e de K_2O (5,98 milhões de toneladas) ainda supera o consumo de N no Brasil (IPNI, 2017). No caso do Estado do Paraná, os volumes de N, P_2O_5 e K_2O utilizados são da ordem de 328, 476 e 455 mil toneladas, respectivamente (IPNI, 2008).

Analisando a relação de consumo $N/P_2O_5/K_2O$ no Brasil em 2003, Lopes, Bastos e Daher (2007) obtiveram valores de 0,65/1,00/1,12. Quando a soja foi retirada do cálculo, a relação ficou 1,19/1,00/1,23. Em países que apresentam agricultura mais tecnificada para a obtenção de altas produtividades, a relação é de 2,82/1,00/1,23. Com base em dados obtidos em 2017, a relação de consumo $N/P_2O_5/K_2O$ no Brasil é de 0,85/1,00/1,11. Dessa forma, mesmo com o aumento da utilização de N na agricultura brasileira, a subutilização de N ainda é um dos fatores mais limitantes para o aumento da produtividade de muitas culturas no Brasil (LOPES, BASTOS e DAHER, 2007). Apesar de o aumento da utilização de fertilizantes

nitrogenados ser uma alternativa viável para o incremento da produção de grãos no Brasil, os mesmos autores afirmam que isso traria uma preocupação econômica para o país, uma vez que a produção nacional de N é praticamente a mesma desde 1994, ou seja, ocorreria um aumento da dependência das importações que já são responsáveis por mais de 70% do N utilizado (ANDA, 2010).

Apesar de o N ser componente chave para a produção de alimentos nas quantidades necessárias, atualmente, o fornecimento de altas doses de N via fertilizante deve ser repensado, pois a obtenção de amônia sintética (NH_3), a qual é a base para a produção dos principais fertilizantes nitrogenados, é um processo altamente oneroso, pois está diretamente relacionado com a utilização de combustíveis fósseis (VITTI e HEIRINCHS, 2007). Dessa forma, parece mais adequado estudar maneiras de aumentar a eficiência da adubação nitrogenada.

2.2.4 Adubação Nitrogenada nas Culturas de Milho e Trigo

As Poáceas por apresentarem baixa eficiência na fixação biológica do N_2 (FBN), normalmente necessitam de fornecimento adicional de N para alcançarem altos rendimentos de grãos, tornando-as a família de plantas com maior impacto na demanda mundial de fertilizantes. Dados coletados no ano agrícola de 2014-2015 demonstraram que das 102,5 milhões de toneladas (Mt) de N utilizadas na agricultura mundial, 57,3 Mt de N, ou seja, 55,9% foram aplicados em Poáceas. A cultura do trigo foi responsável por 18,2% do consumo global desse nutriente, seguida pela cultura do milho com 17,8% (IFA, 2014). Segundo o mesmo levantamento, no Brasil foram utilizadas 1,059 milhão de toneladas de N na cultura do milho e 179 mil toneladas na cultura do trigo.

Casos de efeitos benéficos da adubação nitrogenada na cultura do milho são amplamente relatados na literatura (SCHMIDT et al., 2002; SOUZA e SORATTO, 2006; RAMBO et al., 2007; PAVINATO et al., 2008; CRUCIOL et al., 2011; MELLO, 2012; VILELA et al., 2012; PITTA et al., 2013; CAIRES et al., 2016; CAIRES e MILLA, 2016; PEDROSA et al., 2019). Entretanto, as produtividades e as respostas obtidas à adubação nitrogenada têm sido bastante discrepantes entre os estudos, mesmo quando realizados na mesma safra e em regiões com a mesma classificação climática. Em um experimento realizado no município de Ponta Grossa (PR), utilizando o hibrido simples de milho P30F53 na safra de 2012-2013, Pedrosa et al. (2019) obtiveram produtividade de 8145 kg ha^{-1} de grãos com a utilização de 30 kg de N ha^{-1} como adubação de base e alcançaram 11583 kg ha^{-1} de

grãos com a adubação de base mais 130 kg de N ha^{-1} em cobertura. Em contrapartida, em outro experimento realizado no município de Candói (PR), utilizando o hibrido simples P1630 na mesma safra (2012-2013), Caires e Milla (2016) obtiveram produtividade de 16464 kg ha^{-1} de grãos com a utilização de 65 kg de N ha^{-1} como adubação de base e, de acordo com a equação de regressão ajustada, alcançaram 18441 kg ha^{-1} de grãos com a adubação de base mais 130 kg de N ha^{-1} em cobertura. Se fosse utilizada a dose total de 160 kg N ha^{-1} nesses dois experimentos, as produtividades de milho seriam de 11583 e 17909 kg ha^{-1} no experimento de Ponta Grossa e de Candói, respectivamente.

A recomendação de adubação nitrogenada para a cultura do milho no Estado do Paraná é, atualmente, baseada na cultura antecessora e na produtividade esperada. Em áreas anteriormente cultivadas com gramíneas (Poáceas), recomenda-se aplicar de 30 a 50 kg N ha^{-1} na semeadura do milho e uma dose total de N (semeadura mais cobertura) variando entre 181 e 260 kg N ha^{-1} para a obtenção de produtividades entre 13000 e 16000 kg ha^{-1} (PAULETTI e MOTTA, 2017).

Efeitos benéficos da adubação nitrogenada na cultura do trigo também têm sido observados em grande número de estudos (FREITAS et al., 1994, 1995; BREDEMIER E MUNDSTOCK, 2001; HEINEMANN et al., 2006; TRINDADE et al., 2006; TEIXEIRA FILHO et al., 2007, 2010; HUNGRIA et al., 2010; BOSCHINI et al. 2011; MELLO, 2012; THEOGO et al., 2014; LOS GALETTO et al., 2017), mas as produtividades e as respostas obtidas à aplicação de N têm sido bastante variadas. Estudos realizados em Ponta Grossa (PR) por Hungria et al. (2010) revelaram produtividades de trigo entre 2014 e 2031 kg ha^{-1} com a utilização de 20 kg N ha^{-1} na semeadura e sem aplicação de N em cobertura, e entre 2524 e 2921 kg ha^{-1} com aplicação adicional de 50 kg N ha^{-1} em cobertura. Entretanto, em condições semelhantes de cultivo e utilizando a mesma fonte de N em cobertura (ureia), Los Galetto et al. (2017) obtiveram produtividade de trigo de 3475 kg ha^{-1} com a utilização de 16,5 kg N ha^{-1} na semeadura e, de acordo com a equação de regressão ajustada, alcançaram produtividade de 3981 kg ha^{-1} com a utilização de 50 kg N ha^{-1} em cobertura, com respostas positivas mediante o emprego de até 67 kg N ha^{-1} em cobertura, alcançando 4015 kg ha^{-1}. Os autores também observaram influência da fonte de N utilizada na produtividade da cultura do trigo. Todavia, em condições de cultivo de trigo irrigado no cerrado brasileiro, existem relatos de produtividade de 4436 kg ha^{-1} com a aplicação de 16 kg N ha^{-1} na semeadura, sendo observado aumento na produtividade com a aplicação de até 172 kg N em cobertura, atingindo produtividade superior a 6300 kg ha^{-1} (TRINDADE et al., 2006).

A recomendação atual de adubação nitrogenada para a cultura do trigo no Estado do Paraná é baseada na cultura antecessora, no teor de matéria orgânica do solo e na produtividade esperada. Em áreas cultivadas anteriormente com soja, recomenda-se aplicar de 10 a 30 kg N ha^{-1} na semeadura e, para áreas cultivadas anteriormente com milho, são recomendadas doses entre 25 e 50 kg N ha^{-1}, sendo sugerido aumentar as doses de N na semeadura para a obtenção de mais altas produtividades. Em solos com teor de carbono orgânico superior a 20 g kg^{-1}, recomenda-se aplicar entre 71 e 110 kg N ha^{-1} para cultivo anterior com gramíneas (Poáceas) e entre 51 e 80 kg N ha^{-1} para cultivo anterior com leguminosas (Fabáceas) visando a obtenção de produtividades superiores a 4500 kg ha^{-1} (PAULETTI e MOTTA, 2017).

Apesar de a adubação nitrogenada ser fundamental para a obtenção de altos rendimentos de trigo, a utilização de doses muito elevadas buscando aumentar o rendimento de grãos representa grande risco, pois são comuns relatos da ocorrência de acamamento das plantas com à aplicação de doses elevadas de N (ZAGONEL e FERNANDES 2007; TEIXEIRA FILHO et al. 2010, 2011; ESPINDULA et al. 2010; MELERO et al. 2013; PRANDO et al. 2012; LOS GALETTO et al., 2017).

2.2.5 Adubação Nitrogenada na Cultura da Soja

A adubação nitrogenada não é recomendada para a cultura da soja devido à alta eficiência do processo de FBN. A recomendação atual para a cultura da soja é a utilização de inoculantes a base de *Bradyrhizobium japonicum* como forma de fornecer N para cultura (PAULETTI e MOTTA, 2017). Entretanto o fornecimento de N via FBN apresenta redução de eficiência durante a fase reprodutiva da cultura (LAWN e BRUN 1974; RYLE et al., 1979). A redução do fornecimento de N via FBN torna necessária a translocação do N presente nas folhas para as vagens e grãos. Com isso, a necessidade de adubação nitrogenada na cultura da soja, especialmente em estádios mais avançados de desenvolvimento da cultura e para ambientes com alto potencial de rendimento de grãos, tem gerado muita discussão.

A utilização de altas doses de N na semeadura da soja não é recomendada porque pode prejudicar a nodulação em áreas com ou sem inoculação das sementes (HUNGRIA et al., 2006; 2013; 2015; MENDES et al., 2008). Entretanto, aplicações de N em doses não muito elevadas na fase reprodutiva da cultura têm sido discutidas. Em diversos estudos não foram obtidas respostas positivas da soja à adubação nitrogenada tardia (PAPACOSTA e VERESOGLOU, 1989; LAMB et al., 1990; WOOD et al., 1993; KOUTROUBAS et

al.,1998). Hungria et al. (2006) também não observaram aumentos na produtividade de soja em experimentos conduzidos no Paraná (Londrina e Ponta Grossa) com a utilização de 50 kg ha^{-1} de N no estádio R_2 ou R_4, obtendo-se rendimentos médios de 2932 em Londrina e 2532 kg ha^{-1} em Ponta Grossa. Em contrapartida, Salvagiotti et al. (2008) analisaram dados coletados entre 1996 e 2006 e observaram maior eficiência da adubação nitrogenada em soja quando realizada no estádio R_3 ou superior. Mourtzinis et al. (2018) analisaram 207 experimentos realizados nos Estados Unidos da América (EUA) e concluíram que a adubação nitrogenada na fase reprodutiva aumenta a produtividade da soja em comparação à ausência de aplicação de N. Wesley et al. (1998) observaram aumento médio na produtividade da soja de 470 kg ha^{-1} com a utilização de 20 kg N ha^{-1} no estádio R_3, no Kansas (EUA). Cabe ressaltar que as respostas positivas à adubação nitrogenada estão ligadas ao potencial produtivo da cultura, sendo observadas respostas positivas em áreas com maiores tetos de produtividade (WESLEY et al. 1998; SALVAGIOTTI et al., 2008; LA MENZA et al., 2017).

2.3 EFICIÊNCIA NA UTILIZAÇÃO DO NITROGÊNIO

A eficiência de uso do N trata de um termo complexo que procura dimensionar o aproveitamento do N pelas culturas. Sumarizando as definições de Dobermann (2005), Fageria et al. (2005), Hofman e Cleeput (2004) e Ladha et al. (2005), tem-se:

Eficiência agronômica (EA, kg kg^{-1}) = $(G_N-G_0)/N_A$,

onde, G_N é a produtividade de grãos com a adição de determinada dose de N (kg ha^{-1}), G_0 é a produtividade de grãos sem adubação nitrogenada (kg ha^{-1}) e N_A é a quantidade de N aplicada (kg ha^{-1});

Fator parcial de produtividade do N (FPP_N, kg kg^{-1}) = G_N/N_A,

onde, G_N é a produtividade de grãos com a adição de determinada dose de N (kg ha^{-1}) e N_A é a quantidade de N aplicada (kg ha^{-1});

Estima-se que a eficiência da adubação nitrogenada para os principais cereais cultivados no mundo é de aproximadamente 33% (RAUN & JOHNSON, 1999), deixando grande parte do N aplicado sujeito a perdas pelos processos de imobilização, lixiviação, volatilização e desnitrificação. Segundo Hofman e Cleeput (2004), o FPP_N para as culturas de milho e trigo se encontra, geralmente, entre 40 e 60 kg de grãos por kg de N aplicado, entretanto podem ser atingidos valores superiores a 100 kg de grãos por kg de N aplicado.

Melgar e Daher (2007), avaliando dados de diversos países, observaram ampla variação no FPP_N para a cultura do milho. Na China, devido à baixa produtividade e ao

elevado uso de N, os valores de FPP_N foram próximos de 26 kg de grãos por kg de N aplicado; na Argentina, os valores de FPP_N foram superiores a 123 kg de grãos por kg de N aplicado e, no Brasil, os valores de FPP_N foram da ordem de 100 kg de grãos por kg de N aplicado. Os altos valores de eficiência obtidos na Argentina e no Brasil se devem principalmente à aplicação de doses de N mais baixas, sendo empregados em média 58 e 48 kg N ha^{-1}, respectivamente. Em estudos mais recentes realizados na região dos Campos Gerais do Paraná, Caires et al. (2016) obtiveram valores de FPP_N para a cultura do milho de 108 kg Kg^{-1} considerando a dose 60 kg N ha^{-1} quando o solo não apresentava limitações químicas no subsolo devido ao uso de gesso. Os mesmos autores observaram redução significativa do FPP_N com o aumento da dose de N aplicada, atingindo valores máximos de 73 e 57 kg kg^{-1} para as doses de 120 e 180 kg N ha^{-1} com a utilização de 15 t ha^{-1} de gesso.

Também na região dos Campos Gerais do Paraná, Los Galetto et al. (2017) verificaram que o aumento da dose de N diminuiu o FPP_N na cultura do trigo, tendo-se obtido valores de FPP_N de 70, 42 e 28 kg kg^{-1} para as doses de 40, 80 e 120 kg N ha^{-1}, respectivamente. Todavia, apesar de doses baixas de fertilizantes aumentarem a eficiência de uso do N, o emprego das mesmas pode resultar na utilização indesejável do estoque de N e da matéria orgânica do solo, o que compromete a fertilidade do solo a médio e longo prazo (DOBERMANN, 2007).

Ladha et al. (2005) analisaram dados de 93 estudos de eficiência de uso do N nas culturas de milho e trigo, cujos resultados estão apresentados na Tabela 2.

TABELA 2. Eficiência na utilização do nitrogênio na cultura de milho e trigo. Adaptado de Ladha et al. (2005).

Eficiência de uso do N	Milho	Trigo
EA (kg kg^{-1})	24,2	18,1
FPP_N (kg kg^{-1})	72,0	44,5

Devido à necessidade de aumentar eficiência de uso do N, diversas estratégias têm sido utilizadas, tais como: (i) definição de doses, tipos de fertilizantes, época e locais de aplicação apropriados; (ii) melhorar as condições do solo visando aumentar o comprimento e o aprofundamento do sistema radicular para minimizar perdas de N por lixiviação; (iii) fornecimento adequado de outros nutrientes como P, Mo, Mn e Cu para melhorar o metabolismo do N na planta; e (iv) controle da irrigação, favorecendo a absorção e reduzindo perdas por lixiviação (FIXEN, 2010; CAIRES et al., 2016, VITTI e HEIRINCHS, 2007, FANCELLI, 2010; NAKAMURA et al.,2004). Outras estratégias que podem ser viáveis para

aumentar a eficiência de uso do N são a inoculação das sementes de cereais com bactérias diazotróficas endofíticas, pois tais bactérias podem fornecer N às culturas via FBN e aumentar o aproveitamento do N presente no solo (FANCELLI, 2010; HUNGRIA et al., 2010), e o fornecimento de S, tendo em vista o sinergismo entre N e S (MALAVOLTA e MORAIS, 2007; SALVAGIOTTI E MIRALLES, 2008; SALVAGIOTTI et al., 2009).

2.4 ENXOFRE

2.4.1 Enxofre no Solo

A dinâmica do S nos sistemas agrícolas é semelhante à do N, apresentando diversos compostos orgânicos e minerais, em diferentes estados de oxidação e redução, estando também submetido a processos de mineralização, imobilização além de adsorção.

Nos solos minerais o principal reservatório de S é a matéria orgânica, a qual apresenta aproximadamente 0,5% desse nutriente em sua composição (FANCELLI e TSUMANUMA, 2007). Analisando a camada 0-15 cm de diversos solos minerais com ampla variação textural, Tabatabai e Bremner (1972) observaram que entre 95 e 98% do S total dos solos encontravam-se na forma orgânica, o que justifica a elevada correlação entre os teores de C orgânico, N e S total existente no solo.

Para se tornar disponível às plantas, o S necessita ser mineralizado. Tal processo é análogo à mineralização do C e N, sendo exclusivamente microbiológico. Todavia, as taxas de mineralização do C, N e S dependem das caraterísticas do material orgânico, da atividade, diversidade e população de microrganismos presentes no solo, além de fatores climáticos. Para solos aeróbicos, os quais são os mais utilizados na agricultura, o produto final da mineralização do S orgânico é o sulfato (SO_4^{2-}) (AITA E GIACOMINI, 2007). Segundo Cantarella e Montezano (2010), a real contribuição das formas orgânicas na disponibilidade de S para as culturas é bastante controversa tendo em vista que as porcentagens de mineralização do S orgânico pode ser muito variável, sendo mais considerável em solos sob SPD onde ocorre acumulo de matéria orgânica em superfície.

A deposição atmosférica de S na forma de dióxido de enxofre (SO_2) também pode ser considerada uma fonte significativa de S nos sistemas agrícolas, ocorrendo em maiores quantidades em áreas próximas a regiões mais populosas e/ou industrializadas. De acordo com Osorio Filho et al. (2007), a deposição atmosférica fornece anualmente 3,2 kg ha^{-1} de S, o que corresponde a um aporte de 9,6 kg ha^{-1} de SO_4^{2-}. Entretanto, com o crescente controle da

emissão de poluentes, o fornecimento de S por esse processo tem sido constantemente reduzido (CANTARELLA E MONTEZANO, 2010)

O ânion SO_4^{2-}, em condições normais de cultivo, não é retido na camada superficial, sendo facilmente lixiviado. Isso se deve aos seguintes fatores: (i) o maior teor de matéria orgânica na camada superficial do solo aumenta a densidade de carga elétrica negativa no solo, repelindo o sulfato; (ii) a aplicação de calcário aumenta o pH e proporciona liberação de sulfatos adsorvidos na camada superficial do solo; e (iii) a adubação fosfatada realizada na camada superficial do solo, pois os íons fosfatos ocupam preferencialmente as posições de troca que poderiam ser ocupadas pelo sulfato (RAIJ, 2011). Dessa forma, pode-se afirmar que as áreas sob SPD apresentam condições favoráveis à movimentação de sulfatos para camadas mais profundas, pois a calagem é realizada na superfície, a aplicação de fosfatos ocorre nos primeiros centímetros do perfil e ocorre acúmulo de matéria orgânica, especialmente na camada superficial do solo.

Em solos há longo período sob SPD é comum observar um gradiende de pH com o aumento da profundidade do solo, o que é decorrente da correção da acidez realizada por meio da aplicação superficial de calcário (CAIRES et al., 2002, 2015). Em tais solos, também comumente se observa aumento no conteúdo de matéria orgânica, em maior magnitude na camada superficial (BRIEDIS et al., 2012). Além disso, segundo Souza et al. (2010), o P apresenta baixíssima mobilidade no solo, acumulando-se no local da aplicação. Dessa forma, as camadas de solo abaixo de 20 cm de profundidade tendem a apresentar teores mais elevados de sulfato (FANCELLI e TSUMANUMA, 2007; RAIJ, 2008). Tal dinâmica do sulfato no solo coloca em dúvida a avaliação da disponibilidade de S centrada apenas na camada de 0-20 cm (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010). A adequada avaliação da disponibilidade de sulfato no solo ainda é precária na agricultura brasileira, especialmente em ambientes com alto potencial de rendimento de grãos sob plantio direto. Alguns estudos realizados em SPD mostraram que a camada de solo de 0-20 cm foi a mais adequada para a avaliação da disponibilidade de S no solo, indicando níveis de suficiência de sulfato > 16,2 mg dm^{-3} pelo extrator fosfato de cálcio 0,01 mol L^{-1} (CHURKA BLUM et al., 2014) e > 15,5 mg dm^{-3} (CHURKA BLUM et al., 2014) ou > 25,8 mg dm^{-3} (CAIRES et al., 2002) pelo extrator acetato de amônio 0,5 mol L^{-1} em ácido acético 0,25 mol L^{-1}.

2.4.2 Enxofre na Planta

As exigências nutricionais de S pelas culturas agrícolas são inferiores às de N e K, mas similares ou superiores às de P (CANTARELLA E MONTEZANO, 2010). As doses de S necessárias para a maioria das culturas variam de 15 a 50 kg ha^{-1} (RAIJ et al., 1996; VITTI e HEINRICHS, 2007). O S juntamente com o N são os nutrientes que fazem parte dos compostos de C, tais como: cisteína, cistina, metionina, ácido lipoico, coenzima A, tiamina pirosfosfato, glutationa, biotina, 5'-adenilil-sulfato e 3'-fosfoadenosina (MARSCHNER, 2012; TAIZ et al., 2017). Devido à relação entre N e S, estudos têm demonstrado benefícios do fornecimento de S no aproveitamento do N pelas culturas (SALVAGIOTTI e MIRALLES, 2008; SALVAGIOTTI et al. 2009), sendo observada uma relação N/S de 8/1 a 15/1 para a maioria das plantas cultivadas (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010).

Segundo Barber (1966) citado por Malavolta (2006), o S é absorvido na forma de sulfato, através do fluxo de massa e difusão radicular, sendo que cerca de 95% ocorrem pela primeira rota. Portanto, a sua entrada na planta é altamente dependente da evapotranspiração das plantas (FANCELLI & TSUMANUMA, 2007). Após a sua assimilação, o S apresenta baixa mobilidade na planta. Dessa forma, a sua redistribuição é pequena no floema, o que facilita a diferenciação da deficiência de S e de N, pois, os sintomas de deficiência de S ocorrem no terço superior das plantas (MARSCHNER, 2012; MALAVOLTA E MORAES, 2007; TAIZ et al., 2017).

Além de estar diretamente relacionado ao metabolismo do N, o S também é corresponsável pela maximização da FBN através da sua participação na ferredoxima, enzima geradora de H_2 que, através da reação com o N_2 atmosférico, forma amônia (VITTI e HEIRINCHS, 2007). Sendo assim, é possível que o fornecimento adequado de S para as culturas aumente a eficiência de uso do N.

2.4.3 Fornecimento de Enxofre as Culturas

Nas principais regiões produtoras de grãos no Brasil, quantidades suficientes de Ca e Mg são normalmente adicionadas pela calagem, o P e o K são constantemente repostos via adubação, e o N é fornecido via adubação e/ou fixação biológica. Porém, a adubação com S é, frequentemente, deixada em um segundo plano.

Diversas fontes de N, P ou K e que possuem S em sua composição podem ser utilizadas para suprir S às culturas, como o sulfato de amônio, o superfosfato simples e o

sulfato de potássio, com teores de S de 24, 12 e 18% de S, respectivamente (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010). Apesar de fornecerem S às culturas, tais fontes apresentam baixas concentrações de N, P ou K em relação à outros fertilizantes, o que dificulta a sua utilização devido ao aumento de volume de fertilizante necessário para suprir a demanda desses nutrientes.

Outra fonte alternativa para o fornecimento de S às culturas é o gesso agrícola ou fosfogesso. O gesso agrícola ($CaSO_4.2H_2O$) é um subproduto, na forma de pó, obtido no processo de produção do ácido fosfórico, utilizado para a produção de fertilizantes fosfatados. O ácido fosfórico é normalmente obtido através da ação do ácido sulfúrico sobre a rocha fosfática, finamente moída, previamente purificada e concentrada (VITTI et al., 2008). Para cada tonelada de P_2O_5 na forma de ácido fosfórico produzido obtêm-se de 4,0 a 5,0 t de gesso e, na produção de uma tonelada de ácido fosfórico, são geradas cerca de 5,5 t de gesso. O gesso agrícola, excluindo-se a água, contém cerca de 950 g kg^{-1} de sulfato de cálcio di-hidratado (MALAVOLTA et al., 1992). Além disso, o gesso agrícola contém, em média, 7,5 g kg^{-1} de P_2O_5 (VITTI, et al., 2008) como impureza em sua composição. A presença de P, como impureza no gesso agrícola, assume um importante papel na nutrição de P das plantas quando o produto é utilizado em doses elevadas. Atualmente, o gesso é um importante insumo utilizado na melhoria das condições de subsolos ácidos, principalmente em áreas sob SPD em que o calcário, por ser depositado sobre a superfície, apresenta menor efeito na redução da toxicidade do Al^{3+} nas camadas mais profundas, abaixo dos primeiros 20 cm. Diversos estudos têm demonstrado melhoria nas condições químicas do perfil do solo com o uso de gesso agrícola em SPD (CAIRES et al., 2001; 2002; 2003; 2006; 2011a; RAMPIM et al., 2011).

A aplicação de gesso agrícola tem demonstrado bons resultados em cereais. A cultura do milho é a que tem apresentado melhores resultados com a aplicação de gesso agrícola (TOMA et al., 1999; CAIRES et al., 1999; 2011b; 2016). Em cereais de inverno, aumentos na produtividade com o uso de gesso agrícola também têm sido relatados (CAIRES et al., 2001; 2002; RAMPIM et al., 2011). Para a cultura da soja, vários estudos realizados no Paraná sem a ocorrência de deficiência hídrica durante o ciclo da cultura, não demonstraram incrementos na produtividade de grãos (CAIRES et al., 2001; 2003; 2006; 2011b). Caires et al. (2016) verificaram que a aplicação de gesso agrícola proporcionou aumento na absorção N e na produtividade de grãos de milho, tendo-se observado aumento significativo na eficiência de uso do N pela cultura do milho por causa de maior captura de nitrato em camadas subsuperficiais decorrente do maior crescimento

de raízes em profundidade. Entretanto, tal estudo foi realizado em área que apresentava limitações químicas no subsolo para o crescimento radicular das plantas. Trabalhos em áreas sem limitação química ao crescimento radicular no subsolo e com a utilização de gesso visando principalmente o fornecimento de nutrientes ainda precisam ser realizados.

2.5 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

O N utilizado pelas plantas, em sua grande maioria, é proveniente da atmosfera, seja via fixação química industrial ou por meio de processos naturais como a FBN. A atmosfera é uma fonte quase inesgotável de N_2, pois esse elemento representa quase 80% do total de gases da atmosfera, sendo constantemente reabastecido pelo processo de desnitrificação.

Estima-se que as proporções de N adicionadas ao solo por processos físico-químicos, industriais e biológicos sejam de 10%, 25% e 65%, respectivamente (LOPES 2007). Aproximadamente 172 milhões de toneladas de N são biologicamente fixadas, contribuindo para a produção agrícola e para a manutenção dos ecossistemas (ISHIZUKA, 1992).

Segundo Lopes (2007), os microrganismos fixadores de N podem ser agrupados da seguinte forma:

- *Rizóbios*: Incluem-se nesse grupo bactérias dos gêneros *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium* e *Sinorhizobium.* Tais bactérias estabelecem associação com plantas da família das Fabáceas, formando nódulos. Apresentam, em alguns casos, altíssima especialidade, como é o caso da associação de *Bradyrhizobium japonicum* com as plantas de soja. Atualmente, tais bactérias são amplamente utilizadas na agricultura, podendo, em alguns casos, eliminar a necessidade de adubação nitrogenada.
- *Cianobactérias*: Microrganismos fotossintéticos normalmente associados a pteridófitas aquáticas. Atualmente, não são empregadas na agricultura.
- *Franckia*: São actinomicetos formadores de nódulos que apresentam simbiose com plantas não leguminosas, principalmente arbóreas.
- *Diazotróficas*: São bactérias que vivem na rizosfera de várias plantas, principalmente as da família das Poáceas, sem formarem nódulos. Incluem-se nesse grupo as bactérias do gênero *Beijerinckia, Azobacter, Herbaspirillum* e *Azospirillum.*

O grupo que tem apresentado maior interesse, atualmente, é o das Diazotróficas e, em especial, o gênero *Azospirillum.* Apesar de as pesquisar com a utilização de *Azospirillum*

sp. estarem concentradas em cereais, existem evidências de efeitos desses microrganismos na promoção do crescimento vegetal em 113 espécies de plantas, abrangendo 35 famílias botânicas, com respostas na germinação, no desenvolvimento inicial das plântulas, no crescimento radicular e da parte aérea, no aumento de produtividade, na FBN, no aumento da absorção de nutrientes, na mitigação de estresse climáticos, na proteção contra patógenos, entre outras (PEREG et al., 2016). Entretanto, tais autores observaram grande variação de respostas evidenciando que existe uma interação bastante complexa entre as estirpes, as espécies de plantas (inclusive entre diferentes cultivares e híbridos) e o ambiente. Dessa forma, estudos visando a compreensão dos efeitos da inoculação de tais bactérias nas plantas cultivadas em diferentes ambientes são necessários.

2.6 INOCULAÇÃO DE MILHO E TRIGO

Estudos com a inoculação de Poáceas com bactérias do gênero *Azospirillum* vêm sendo realizados há várias décadas. Okan e Gonzalez (1994) compilaram resultados de 20 anos de estudos e observaram grande variação nos resultados obtidos, com aumentos significativos nos parâmetros de produção avaliados em 60 a 70% dos casos e com aumentos na produtividade entre 5 e 30%.

A inoculação das sementes com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), como *Azospirillum* sp., pode promover diversas alterações nas culturas, entre elas: o fornecimento de reguladores de crescimento como auxinas, giberilinas e citocininas (CASSÁN et al., 2009), a mitigação de estresses e o controle biológico de patógenos (BASHAN E DE-BASHAN, 2010), bem como o crescimento radicular (VOLFSON et al., 2013). Do ponto de vista nutricional, tais bactérias podem proporcionar benefícios além da FBN, como a solubilização de fosfatos (RODRIGUEZ et al., 2007) e o aumento da absorção de NH_4^+ e NO_3^- (HUNGRIA et al., 2010), contribuindo, dessa forma, para o aumento da eficiência da adubação.

Diversos trabalhos têm demonstrado eficiência da inoculação de sementes de milho e trigo com *Azospirillum brasilense* (DARTORA et al., 2013; PICCININ et al., 2012; NOVAKOWISKI et al., 2011; DOBBELAERE et al., 2002). Hungria et al. (2010), utilizando duas estirpes de *Azospirillum* sp. conjuntamente (Ab-V5 e Ab-V6) e as doses de 24 kg N ha^{-1} na semeadura do milho e 20 kg N ha^{-1} na semeadura do trigo, obtiveram incrementos de 27% e 31% nas produtividades de milho e trigo, respectivamente, em relação ao tratamento controle sem inoculação. Porém, as máximas produtividades obtidas nesse

estudo foram de 3,9 t ha^{-1} de milho e 2,7 t ha^{-1} de trigo. Kappes et al. (2013), utilizando as mesmas estirpes, observaram incremento na produtividade de milho na ordem de 10% por meio da inoculação, alcançando produtividade de 9,5 t ha^{-1}. Entretanto, em outros estudos, efeitos positivos da inoculação de *Azospirillum* sp. não foram observados (DIDONET et al., 2000; OGÜT et al., 2005; REPKE, 2013; MARINI et al., 2015).

As respostas à inoculação de *Azospirillum* sp. são variadas e parecem estar relacionadas com condições estressantes, principalmente durante os estádios iniciais de crescimento das plantas. Na região dos pampas da Argentina, observou-se que as respostas do trigo à inoculação com *Azospirillum brasilense*, avaliadas pela produtividade de grãos, diminuíram com o aumento das chuvas (Rodriguez Cáceres et al. 2008 citados por CASSÁN & DÍAZ-ZORITA, 2016). Com base em 298 experimentos realizados na Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai, Díaz-Zorita et al. (2012) também concluíram que as respostas do milho à inoculação com *Azospirillum* sp. foram maiores em condições estressantes durante o crescimento inicial das plantas. Quando ocorre escassez de água durante os estádios iniciais de crescimento das plantas, o efeito positivo da inoculação com *Azospirillum* sp. se torna mais evidente (CASSÁN & DÍAZ-ZORITA, 2016). Durante as condições iniciais do estresse, o *Azospirillum* sp. aumenta o comprimento, a superfície e o volume radicular em comparação com plantas não inoculadas (DOBBELAERE et al., 1999; KAPULNIK et al., 1985). Porém, sob intensa condição de estresse hídrico ou de limitação de nutrientes, as respostas à inoculação com *Azospirillum* sp. raramente são observadas (NAIMAN et al., 2009; MEHNAZ et al., 2010; LANA et al., 2012; NASERI et al., 2013).

Apesar de a utilização de *Azospirillum* sp. em cereais ter apresentado grande interesse nos últimos anos, ainda são poucos os trabalhos realizados em ambiente de alto rendimento de grãos sob SPD. Portanto, torna-se necessária a realização de novos estudos envolvendo a inoculação de *Azospirillum brasilense* em ambientes de altas produtividades visando maximizar a produtividade de cereais e aumentar a eficiência de uso do N.

2.7 INOCULAÇÂO E CO-INOCULAÇÃO EM SOJA

A inoculação de sementes de soja com *Bradyrhizobium japonicum* é um dos exemplos de maior sucesso no uso de microrganismos na agricultura. Atualmente, essa prática é amplamente difundida, tendo sua eficiência comprovada por diversos estudos (HUNGRIA et al., 2005, 2006, 2013; ZILLI et al., 2006, 2008). Em áreas agrícolas em que o cultivo de soja é realizado com certa frequência, é comum observar a formação de nódulos mesmo na

ausência da inoculação. Entretanto, de acordo com Hungria et al. (1997), a inoculação das sementes nessas áreas promove aumentos de 3,8 a 7,8% na produtividade de grãos em cerca de 70% dos casos.

O processo de fixação biológica demanda um alto gasto de energia para a soja e não ocorre de forma contínua durante todo o ciclo da cultura. A nodulação e, consequentemente, a FBN tem início no estádio V_2 e atinge seu máximo em R_2, apresentando rápido declínio após o início da formação das vagens (LAWN e BRUN 1974; RYLE et al., 1979). A fixação biológica decresce no início da frutificação devido à competição por fotoassimilados com as vagens e grãos. Tal comportamento pode limitar a disponibilidade de N para a formação de grãos e manutenção de adequada área foliar devido a diminuição de fotoassimilados para os nódulos (LAWN & BRUN 1974). Dessa forma, a redução da FBN com o início da formação de vagens pode ser mais prejudicial em cultivares de soja que apresentam crescimento indeterminado, pois tais materiais continuam o seu crescimento vegetativo após o início da fase reprodutiva.

Apesar de a FBN ser considerada a principal fonte de N para a soja, existem controvérsias sobre a real quantidade de N fornecido por esse processo. Salvagiotti et al. (2008) relataram que entre 50 e 60% da demanda de N pela soja é provida pela FBN, enquanto Harper (1974) observaram que tais valores estavam entre 25 e 60%. Todavia, Mastrodomenico e Purcell (2012) concluíram que 90% no teor de N nos grãos de soja foi oriundo da FBN e George et al. (1988) observaram que a FBN contribuiu com 97% do N absorvido pela cultura da soja.

Nos últimos anos, a utilização conjunta de microrganismos de diferentes espécies em co-inoculação visando o fornecimento mais adequado de N para a soja tem despertado grande interesse. Estudos realizados em ambiente controlado avaliando os efeitos da co-inoculação de *Azospirillum brasilense* em sementes inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* têm demonstrado benefícios na germinação de sementes e na quantidade e atividade dos nódulos nas raízes de plantas jovens de soja (CASSÁN et al., 2009; GROPPA, ZAWOSKI e TOMARO, 1998). Em estudo realizado no campo, Benintende et al. (2010) relataram aumento no peso de nódulos na fase vegetativa e reprodutiva, além de incremento no acúmulo de N com a co-inoculação em relação à utilização de *Bradyrhizobium* isoladamente. Hungria et al. (2013, 2015) não observaram aumento no número e na massa seca de nódulos e na massa seca e no teor de N da parte aérea, mas obtiveram respostas positivas na produtividade de grãos de soja com a co-inoculação. Cabe ressaltar que apesar de o aumento no rendimento de grãos de soja com o uso conjunto de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*

em tais estudos, as produtividades obtidas foram relativamente baixas. Para a consolidação dessa prática, mais estudos envolvendo a co-inoculação de *Azospirillum brasilense* em sementes de soja inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* precisam ser realizados em ambiente com alto potencial de rendimento de grãos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no município de Ponta Grossa (PR), na Fazenda Santa Cruz (25º 13' S, 50º 07' W), com altitude de 830 m e precipitação pluvial anual média de 1550 mm (Tabela 4).

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO SOLO

O solo da área experimental foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico (SANTOS et al, 2013) textura muito argilosa. Antes da instalação do experimento, determinaram-se o pH em $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}, a acidez potencial (H+Al) pelo método de tampão SMP, e os teores de Al, Ca e Mg, por meio de extração com solução de KCl 1 mol L^{-1}, de P disponível e K trocável, por extração com solução de Mehlich 1, de carbono orgânico pelo método de Walkley-Black (PAVAN et al., 1992) e de $S\text{-}SO_4^{2-}$, por meio de extração com solução de fosfato de cálcio 0,01 mol L^{-1} (CANTARELLA & PROCHNOW, 2001). Também foram determinados os teores de areia, silte e argila, conforme os métodos de EMBRAPA (1997). Os resultados das análises químicas e granulométricas do solo estão apresentados na Tabela 3.

TABELA 3. Resultados de análises químicas e granulométricas do solo, em diferentes profundidades, antes da instalação do experimento.

Profundidade	pH ($CaCl_2$)	H+Al	Al	Ca	Mg	K	P[1]	C	$S\text{-}SO_4^{2-}$	V[2]	Areia	Silte	Argila
cm		-------- $mmol_c\ dm^{-3}$ --------					$mg\ dm^{-3}$	$g\ dm^{-3}$	$mg\ dm^{-3}$	%	-------$g\ kg^{-1}$----------		
0–20	5,2	57,6	0	45	13	2,9	6,1	28	45	52	91	349	560
20–40	4,8	72,0	2	25	9	2,4	1,2	26	58	34	76	264	660
40–60	4,9	72,0	2	25	8	1,9	0,2	25	68	33	79	241	680

[1]P extraído com solução de Mehlich 1. [2]V = Saturação por bases.

3.3 MANEJO DO SOLO E SUCESSÃO DE CULTURAS

A área experimental vinha sendo manejada no sistema plantio direto há 34 anos. A sucessão de culturas utilizada na área experimental foi aveia preta/milho/trigo/soja. Antes da

semeadura da aveia preta como planta de cobertura, em 2012, a área recebeu calcário dolomítico visando elevar a saturação por bases, na camada de 0–20 cm, a 70%. Além disso, em anos anteriores à instalação do experimento, a área recebeu 2,2 t ha^{-1} de gesso agrícola.

3.4 CARACTERIZAÇÃO CLIMÁTICA

A precipitação pluvial ao longo do experimento foi superior à média histórica da região de Ponta Grossa (PR), não tendo-se observado problemas com déficit hídrico severo ao longo do estudo. Entretanto, na safra de 2015-2016, ocorreram precipitações pluviais muito elevadas na região (Tabela 4).

TABELA 4. Precipitação pluvial mensal da região de Ponta Grossa (média de 47 anos) e precipitação pluvial mensal ocorrida durante a realização do experimento.

Mês	Média Histórica	Ano					
		2012	2013	2014	2015	2016	2017
Janeiro	186	229	128	252	192	246	242
Fevereiro	161	125	281	152	309	393	240
Março	138	92	105	235	327	180	80
Abril	101	260	72	97	127	127	119
Maio	116	125	87	165	332	272	155
Junho	118	247	479	284	82	212	166
Julho	96	76	134	71	442	171	0
Agosto	79	8	12	117	66	305	57
Setembro	135	72	211	282	231	115	72
Outubro	153	178	176	105	312	134	304
Novembro	119	115	210	274	232	115	220
Dezembro	151	178	169	376	356	138	268
Total	1553	1705	2064	2410	3008	2408	1923

3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental empregado foi o de blocos completos ao acaso em parcelas subdivididas, com três repetições. As áreas de cada parcela e subparcela foram de 156 m^2 (24,0 m × 6,5 m) e 52 m^2 (8,0 m × 6,5 m), respectivamente. Nas parcelas, foram empregados os tratamentos sem inoculação, com inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e com inoculação de *A. brasilense* mais gesso agrícola e, nas subparcelas, foram utilizados três tratamentos de N-ureia em cobertura: sem aplicação de N, ½ da dose de N recomendada (40 kg N ha^{-1} para o trigo e 80 kg ha^{-1} para o milho) e a dose de N recomendada (80 kg N ha^{-1} para o trigo e 160 kg N ha^{-1} para o milho). A dose de N recomendada para foi definida considerando altas produtividades esperadas, de 13 a 16 t ha^{-1} de milho e > 4,5 t ha^{-1}

de trigo. Como a adubação nitrogenada não é recomendada para a cultura da soja, foram empregados os tratamentos sem aplicação de N e com 25 e 50 kg N ha^{-1} em época tardia.

3.6 INOCULAÇÃO DAS SEMENTES

A inoculação das sementes foi realizada no momento da semeadura com as estirpes de *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 via inoculante líquido AzoTotal®, o qual contém $2,0 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia (UFC) mL^{-1}. A dose utilizada para a cultura do milho foi de 4 ml kg^{-1} de sementes na safra de 2012-2013 e 100 mL para 60000 sementes na safra de 2014-2015, e para o trigo a dose utilizada foi de 2,5 mL kg^{-1} de sementes, seguindo as recomendações do fornecedor do inoculante. Para a soja, a dose utilizada foi de 3,5 mL kg^{-1} de sementes no primeiro cultivo (2013-2014), buscando atingir $1,2 \times 10^5$ UFC $semente^{-1}$, sendo utilizado como base de cálculo o peso médio de 1000 sementes de 170 g, seguindo as recomendações de Hungria et al. (2013). No segundo (2015-2016) e no terceiro (2016-2017) cultivo de soja, a dose foi reduzida para 2,0 mL kg^{-1} de sementes, seguindo as recomendações do fornecedor do inoculante. Todas as sementes de soja utilizadas no experimento foram inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* via inoculação liquida na dose recomendada pelo fabricante do inoculante.

3.7 GESSO AGRÍCOLA

O gesso agrícola foi aplicado pouco antes do primeiro cultivo de milho, em 27 de setembro de 2012, na dose de 2,7 t ha^{-1}, visando manter níveis adequados de sulfato no solo da área experimental. A dose de gesso foi calculada visando fornecer cerca de 400 kg S ha^{-1} com base em uma demanda média de 50 kg S ha^{-1} para oito culturas produtoras de grãos (RAIJ et al., 1996; VITTI e HEINRICHS, 2007). O gesso agrícola utilizado no estudo continha 185,2 g kg^{-1} de Ca, 12,1 g kg^{-1} de P_2O_5 e 150,0 g kg^{-1} de S.

3.8 ADUBAÇÃO NITROGENADA

A adubação nitrogenada foi realizada com ureia em cobertura no estádio de desenvolvimento V_4 da cultura do milho (quatro folhas completamente expandidas), no perfilhamento da cultura do trigo e no estádio de desenvolvimento R_3 da cultura da soja (início da formação das vagens). Para o milho foram empregados 80 e 160 kg N ha^{-1}, para o

trigo foram utilizados 40 e 80 kg N ha^{-1} e, para a soja, foram empregados 25 e 50 kg N ha^{-1}, além de um tratamento controle sem N em cobertura.

3.9 CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L), híbrido P 30R50 YH, foi semeado em 28 de setembro de 2012 e em 08 de outubro de 2014, em linhas espaçadas de 0,50 m, sendo utilizadas 3,9 sementes por metro, resultando em uma população final de 75600 plantas por hectare. A adubação de base empregada foi de 45 kg ha^{-1} de N e 57,5 kg ha^{-1} de P_2O_5, tendo-se aplicado 120 kg ha^{-1} de K_2O, na forma de KCl, em cobertura após a emergência das plântulas. A semeadura foi realizada sobre a palhada de aveia preta, a qual recebeu 15 kg ha^{-1} de N e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 na forma de fosfato monoamônico (MAP) na linha de semeadura.

No início do florescimento, foram coletadas amostras de folhas, retirando-se a folha abaixo e oposta à espiga de 30 plantas por subparcela. As folhas foram divididas em três partes sendo utilizado apenas o terço médio de cada folha sem nervura. As amostras de folhas foram lavadas em água deionizada, colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar a 60 ^oC até atingir massa constante e moídas. Em seguida, foram determinados os teores de N, P, K, Ca, Mg e S, conforme os métodos descritos em Malavolta et al. (1997).

Por ocasião da maturidade fisiológica da cultura do milho, coletaram-se cinco plantas inteiras de cada subparcela, as quais foram separadas em folhas, colmos e espigas. Essas amostras colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar a 60 ^oC até atingir massa constante, pesadas para a determinação da produção de matéria seca e moídas para determinação dos teores de N, P, K, Ca, Mg e S, conforme os métodos descritos em Malavolta et al. (1997). Com os dados de produção de matéria seca e de teores de nutrientes nas folhas, colmos e espigas na ocasião da maturidade fisiológica, foi determinada a extração total de nutrientes pelas plantas (folhas + colmos + espigas). Em seguida, realizou-se a colheita manual e posterior trilhagem em máquina debulhadora estacionária. Para a avaliação da produtividade dos grãos de milho foram colhidos 10 m^2 centrais de cada subparcela. Após a debulha, os grãos foram pesados, determinando-se, então, a produtividade de grãos a 130 g kg^{-1} de umidade. Uma parte dos grãos colhidos foi colocada para secar em estufa com circulação forçada de ar a 60 ^oC até atingir massa constante e moída. Em seguida, foram determinados os teores de N, P, K, Ca, Mg e S nos grãos, conforme os métodos descritos em Malavolta et al. (1997).

.

As seguintes eficiências foram calculadas para a cultura do milho, considerando as doses de N aplicadas em cobertura (80 e 160 kg N ha^{-1}), dentro de cada tratamento sem e com inoculação com *Azospirillum brasilense*:

Eficiência agronômica (EA, kg kg^{-1}*)* $= (G_N\text{-}G_0)/N_A$,

onde, G_N é a produtividade de grãos no tratamento que recebeu determinada dose de N em cobertura (kg ha^{-1}), G_0 é a produtividade de grãos no tratamento sem adubação nitrogenada em cobertura (kg ha^{-1}) e N_A é a quantidade de N aplicada em cobertura (kg ha^{-1}).

Fator parcial de produtividade do N (FPP_N*, kg* kg^{-1}*)* $= G_N/N_A$,

onde, G_N é a produtividade de grãos no tratamento que recebeu determinada dose de N em cobertura (kg ha^{-1}) e N_A é a quantidade de N aplicada em cobertura (kg ha^{-1}).

3.10 CULTURA DO TRIGO

O trigo (*Triticum aestivum* L), cv. Quartzo, foi semeado em 05 de julho de 2013. Na safra de 2015, utilizou-se o cultivar TBIO Iguaçu e a semeadura foi realizada em 08 de julho de 2015. Aplicaram-se 45 kg ha^{-1} de N e 90 kg ha^{-1} de P_2O_5 por ocasião da semeadura e 120 kg ha^{-1} de K_2O, na forma de KCl, em cobertura. Na safra de 2016, o cultivar utilizado foi o TBIO Sinuelo, sendo a semeadura realizada em 21 de junho de 2016 e a adubação feita com 45 kg ha^{-1} de N e 90 kg ha^{-1} de P_2O_5 por ocasião da semeadura e 120 kg ha^{-1} de K_2O, na forma de KCl, em cobertura. Em todas as safras de trigo foram utilizados 150 kg ha^{-1} de sementes, as quais foram distribuídas em linhas espaçadas de 0,22 m.

No início do florescimento do trigo foram coletadas amostras de folhas, retirando-se a folha bandeira de 30 plantas por subparcela. As amostras de folhas foram lavadas em água deionizada, colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar a 60 ^oC até atingir massa constante e moídas. Em seguida, determinaram-se os teores de N, P, K, Ca, Mg e S, conforme os métodos descritos em Malavolta et al. (1997).

Por ocasião da maturidade fisiológica da cultura do trigo, foram coletados 2 m de plantas, somente a parte aérea, de cada subparcela. Essas amostras colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar a 60 ^oC até atingir massa constante, pesadas para a determinação da produção de matéria seca e moídas para determinação dos teores de N, P e K, Ca, Mg e S, conforme os métodos descritos em Malavolta et al. (1997). Com os dados de produção de matéria seca e de teores de nutrientes na planta inteira, foi determinada a extração total de nutrientes pela parte aérea. Após a maturidade fisiológica, realizou-se a

colheita manual e posterior trilhagem em máquina debulhadora estacionária. Para a avaliação da produtividade dos grãos de trigo foram colhidos 6 m^2 centrais de cada subparcela. Após a debulha, os grãos foram pesados, determinando-se, então, a produtividade de grãos a 130 g kg^{-1} de umidade. Uma parte dos grãos colhidos foi colocada para secar em estufa com circulação forçada de ar a 60 ^oC até atingir massa constante e moída. Em seguida, foram determinados os teores de N, P, K, Ca, Mg e S nos grãos, conforme os métodos descritos em Malavolta et al. (1997).

As seguintes eficiências foram calculadas para a cultura do trigo, considerando as doses de N aplicadas em cobertura (40 e 80 kg N ha^{-1}), dentro de cada tratamento sem e com inoculação com *Azospirillum brasilense*:

Eficiência agronômica (EA, kg kg^{-1}*)* $= (G_N\text{-}G_0)/N_A$,

onde, G_N é a produtividade de grãos no tratamento que recebeu determinada dose de N em cobertura (kg ha^{-1}), G_0 é a produtividade de grãos no tratamento sem adubação nitrogenada em cobertura (kg ha^{-1}) e N_A é a quantidade de N aplicada em cobertura (kg ha^{-1}).

Fator parcial de produtividade do N (FPP_N*, kg* kg^{-1}*)* $= G_N/N_A$,

onde, G_N é a produtividade de grãos no tratamento que recebeu determinada dose de N em cobertura (kg ha^{-1}) e N_A é a quantidade de N aplicada em cobertura (kg ha^{-1}).

3.11 CULTURA DA SOJA

A soja (*Glycine max* L.) foi semeada nas safras de 2013-2014, 2015-2016 e 2016-2017, em linhas espaçadas de 0,50 m. Na primeira safra, o cultivar BRS 284 foi semeado em 04 de dezembro de 2013, utilizando-se 14 sementes por metro e resultando em uma população final de 250000 plantas por hectare. Na segunda safra, o cultivar M5947 IPRO foi semeado em 18 de novembro de 2015, com densidade de semeadura de 18 sementes por metro, resultando em uma população final de 280000 plantas por hectare. Na terceira safra, o cultivar NS6209 RR foi semeado em 15 de novembro de 2016, sendo utilizadas 16 sementes por metro, resultando em uma população final de 290000 plantas por hectare.

No florescimento da soja foram coletados o terceiro trifólio desenvolvido a partir do ápice em 30 plantas por subparcela. As amostras de folhas foram lavadas em água deionizada, colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar a 60 ^oC até atingir massa constante e moídas. Em seguida, foram determinados os teores de N, P, K, Ca, Mg e S, conforme os métodos descritos em Malavolta et al. (1997).

Por ocasião do estádio R_6 da cultura da soja, foram coletados 1 m de plantas, somente a parte aérea, de cada subparcela. Essas amostras colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar a 60 ^oC até atingir massa constante, pesadas para a determinação da produção de matéria seca e moídas para determinação dos teores de N, P e K, Ca, Mg e S, conforme os métodos descritos em Malavolta et al. (1997). Com os dados de produção de matéria seca e de teores de nutrientes na planta inteira, foi determinada a extração total de nutrientes pela parte aérea. Após a maturidade fisiológica, realizou-se a colheita manual e posterior trilhagem em máquina debulhadora estacionária. Para a avaliação da produtividade dos grãos de trigo foram colhidos 10 m^2 centrais de cada subparcela. Após a debulha, os grãos foram pesados, determinando-se, então, a produtividade de grãos a 130 g kg^{-1} de umidade. Uma parte dos grãos colhidos foi colocada para secar em estufa com circulação forçada de ar a 60 ^oC até atingir massa constante e moída. Em seguida, foram determinados os teores de N, P, K, Ca, Mg e S, conforme os métodos descritos em Malavolta et al. (1997).

3.12 AMOSTRAGEM E ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO

Amostras de solo foram coletadas em julho de 2013 e maio de 2016, retirando-se 10 subamostras por subparcela para constituir uma amostra composta das camadas de 0–10 e 10–20 cm, e quatro subamostras para as camadas de 20–40 e 40-60 cm de profundidade. As amostras de solo até 20 cm foram retiradas com trado calador, e aquelas de 20-40 e 40-60 cm, com trado holandês. Após a coleta, as amostras foram colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar a 40 ^oC e passadas em peneira com malha de 2 mm. Foram determinados o pH em $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}, os teores de Al, Ca e Mg, por meio de extração com solução de KCl 1 mol L^{-1}, de P disponível e K trocável, por meio de extração com solução de Mehlich 1 e o teor de C pelo método Walkley-Black (PAVAN *et al*., 1992). O teor de N total foi determinado por meio de digestão ácida e leitura pelo método Kjeldahl e o de S-SO_4^{2-} por meio de extração com solução de fosfato de cálcio 0,01 mol L^{-1} (CANTARELLA e PROCHNOW, 2001). Nas amostras de solo coletas em 2016 realizou-se o fracionamento granulométrico da matéria orgânica de acordo com a metodologia descrita por Feller (1994) e adaptada por Sá et al. (2001). Determinações de C por Walkley-Black e de N total pelo método Kjeldahl foram realizadas em cada fração. Com a fração granulométrica de 53–2000 μm determinaram-se os teores de C orgânico particulado (COP) e de N particulado (NP), e com a fração < 53 μm determinaram-se os teores de C orgânico associado aos minerais (COAM) e de N associado aos minerais (NAM).

3.13. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram submetidos à análise de variância, de acordo com o delineamento em subparcelas. Na ausência de interação significativa entre os tratamentos de inoculação e as de doses de N, os efeitos foram comparados pelo teste de Tukey a 5%. Desdobramentos foram realizados no caso de interação significativa entre inoculação × doses de N. Para os dados referentes a diagnose foliar da cultura da soja considerou-se apenas o tratamento de inoculação, pois a adubação nitrogenada foi realizada após a coleta de folhas. Todas as análises estatísticas foram executadas por meio do software SISVAR, conforme método descrito por Ferreira (2006).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ATRIBUTOS QUÍMICOS DO SOLO

As análises químicas das amostras de solo coletadas após a colheita do milho e pouco antes da semeadura do trigo em 2013 não revelaram alterações significativas nos valores de acidez ativa (pH em $CaCl_2$) e na acidez trocável (Al), bem como nos teores de Mg e K, em função dos tratamentos de inoculação, inoculação mais gesso e da adubação nitrogenada em cobertura nas camadas de 0-10 e 10-20 cm (Tabela 5); porém, houve uma interação significativa entre os tratamentos para os teores de Ca na camada 0-10 cm (Tabela 5). Os teores de C orgânico e N total também não foram alterados até a camada de 20 cm de profundidade pelos tratamentos empregados. Todavia, observou-se aumento no teor de P, na camada de 0-10 cm, e de $S\text{-}SO_4^{-2}$, nas camadas de 0-10 e 10-20 cm, em decorrência da utilização de gesso no tratamento *Azospirillum* + gesso (Tabela 6).

O desdobramento da interação dos teores de Ca na camada superficial (Tabela 6) demonstrou aumento de Ca nas parcelas onde foi utilizada inoculação juntamente com a aplicação de gesso e sem aplicação de N em cobertura. Como não houve diferença significativa entre os tratamentos com e sem inoculação, pode-se afirmar que o uso de gesso foi o responsável por tal incremento. Também foi observada redução nos teores de Ca com a aplicação de N, apenas quando foi feita a inoculação das sementes juntamente com o uso de gesso.

O aumento nos teores de cálcio devido ao uso de gesso agrícola pode ser atribuído à composição desse condicionador de solo, tendo em vista que o gesso utilizado na área experimental possuía 185,2 g Ca por kg^{-1} e que foi utilizada uma dose 2,7 t ha^{-1} o que resultou em uma adição de 500 kg Ca ha^{-1}. O incremento no teor de Ca com o uso de gesso tem sido reportado em diversos estudos (CAIRES et al., 2003; 2011a,b; 2016, RAMPIM et al., 2011; ZANDONÁ et al., 2015). A redução nos teores de Ca com a aplicação de N está relacionada à formação de complexos de Ca com o NO_3^- e também foi observada em outros estudos (CAIRES e MILLA, 2016, LANGE et al., 2006).

De forma semelhante ao observado nos teores de Ca, o aumento ocorrido nos teores de P e de $S\text{-}SO_4^{2-}$ na camada de 0-10 (Tabela 7) pode ser atribuído à composição do gesso agrícola utilizado no presente estudo, o qual continha 12,1 g P_2O_5 e 150,0 g S kg^{-1}, resultando na adição de 32,7 e 405 kg ha^{-1} de P_2O_5 e S, respectivamente, com a dose de gesso empregada (2,7 t ha^{-1}). O aumento de P na camada superficial do solo corrobora os resultados obtidos por

Caires et al. (2003; 2011b) em Latossolos argilosos e por Rampim et al. (2013) em um Latossolo muito argiloso manejados em SPD.

Tabela 5. Valores de pH e teores de Al, Ca, Mg e K nas camadas de 0-10 e 10-20 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em junho de 2013.

Tratamentos	**pH**	**Al**	**Ca**	**Mg**	**K**
		---------- $mmol_c\ dm^{-3}$ ----------			
		---------- 0-10 cm ----------			
Inoculação					
Sem *Azospirillum*	5,46	0,00	74,78	17,22	6,46
Com *Azospirillum*	5,47	0,00	74,89	19,67	6,16
Com *Azospirillum* e gesso	5,41	0,00	77,22	15,44	5,67
CV (%)	2,56	0,00	10,04	20,84	17,21
Nitrogênio em cobertura					
Sem N	5,43	0,00	75,78	17,00	6,11
½ Dose Recomendada	5,46	0,00	76,78	18,22	6,47
Dose Recomendada	5,44	0,00	74,33	17,11	5,70
CV (%)	3,13	0,00	6,27	11,00	10,97
		---------- Nível de significância ----------			
Inoculação (I)	Ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	Ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	Ns	ns	*	ns	ns
		---------- 10-20 cm ----------			
Inoculação					
Sem *Azospirillum*	4,69	2,89	27,44	8,78	2,92
Com *Azospirillum*	4,80	2,33	33,56	11,89	3,90
Com *Azospirillum* e gesso	4,71	3,11	32,89	10,89	2,71
CV (%)	4,01	35,50	27,12	45,24	23,70
Nitrogênio em cobertura					
Sem N	4,70	2,78	30,78	10,78	3,36
½ Dose Recomendada	4,74	2,94	30,33	10,33	3,21
Dose Recomendada	4,76	2,61	32,78	10,44	2,95
CV (%)	2,56	37,07	16,53	24,13	37,16
		---------- Nível de significância ----------			
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$.

Tabela 6. Desdobramento da interação para os teores de Ca na camada de 0-10 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em junho de 2013.

Tratamentos	**Nitrogênio**			**Efeito**
	Sem N	**½ Dose Recomendada**	**Dose Recomendada**	
		Ca ($mmol_c\ dm^{-3}$)		
Sem *Azospirillum*	71,67Ba	76,67Aa	76,00Aa	ns
Com *Azospirillum*	71,33Ba	80,00Aa	73,33Aa	ns
Com *Azospirillum* e gesso	84,33Aa	73,67Ab	73,67Ab	*
Efeito	**	ns	ns	

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

A ausência nas alterações químicas do solo nas parcelas onde a inoculação foi realizada sem a adição de gesso pode ter sido decorrente ao curto período entre a instalação do experimento e a amostragem do solo, sendo realizado apenas um cultivo de milho. Hungria et. al (2010), avaliando a camada de 0–20 cm, em nove experimentos de inoculação nas culturas de milho e trigo, também não observaram alterações significativas nos atributos químicos do solo nos dois primeiros anos de cultivo.

Entre os nutrientes catiônicos, o K na camada de 0–20 cm (Tabela 5) aumentou consideravelmente em relação às concentrações existentes no solo antes do início do estudo (Tabela 3). O aumento de 1,7 $mmol_c\ dm^{-3}$ na camada de 0–20 cm se deve ao manejo da adubação potássica na área, sendo que 120 kg ha^{-1} de K_2O foram aplicados no milho. Além disso, a amostragem do solo antes da instalação do experimento foi realizada logo após a dessecação da aveia, não havendo tempo suficiente para o K presente na palhada retornar ao solo.

Os resultados obtidos nas camadas de 20-40 e 40-60 para os valores de pH e os teores de Al trocável, Ca, Mg e K (Tabela 8) não evidenciam repostas significativas aos tratamentos empregados. A ausência de alterações também foi observada nos teores de P, C orgânico e N total. Todavia, constatou-se aumento dos teores de $S\text{-}SO_4^{2-}$ com a utilização de gesso agrícola (Tabela 9). O aumento dos teores de S em todas as camadas de solo avaliadas demonstra que o sulfato do gesso se movimentou ao longo do perfil do solo após a sua aplicação. Os aumentos nos teores de $S\text{-}SO_4^{2-}$ no solo observados após 8 meses da aplicação de uma dose relativamente baixa de gesso agrícola (2,7 t ha^{-1}), estão em conformidade com os resultados obtidos em outros estudos realizados na região dos Campos Gerais do Paraná (CAIRES et al., 2003; LOS GALETTO 2016; ZARDO FILHO, 2011).

Tabela 7. Teores de P (Mehlich 1), $S\text{-}SO_4^{2-}$ (fosfato de cálcio), C orgânico e N total nas camadas de 0-10 e 10-20 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em junho de 2013.

Tratamentos	**P**	**$S\text{-}SO_4^{2-}$**	**C orgânico**	**N total**
	----- mg dm^{-3}-----		g dm^{-3}	mg dm^{-3}
	---------- 0-10 cm ----------			
Inoculação				
Sem *Azospirillum*	8,92b	31,06b	30,06	1550,94
Com *Azospirillum*	8,90b	35,50b	28,86	1609,55
Com *Azospirillum* e gesso	12,49a	56,60a	29,50	1654,64
CV(%)	14,79	24,24	3,37	8,17
Nitrogênio em cobertura				
Sem N	10,48	40,26	29,63	1593,78
½ Dose Recomendada	10,18	43,29	29,42	1632,09
Dose Recomendada	9,66	39,62	29,37	1589,27
CV (%)	13,32	23,19	3,21	8,00
	---------- Nível de significância ----------			
Inoculação (I)	*	*	ns	Ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	Ns
Interação I × N	ns	ns	ns	Ns
	---------- 10-20 cm ----------			
Inoculação				
Sem *Azospirillum*	2,51	48,89b	22,34	604,15
Com *Azospirillum*	2,27	54,76b	21,82	698,83
Com *Azospirillum* e gesso	2,90	70,23a	21,94	685,30
CV(%)	30,83	14,50	4,59	19,76
Nitrogênio em cobertura				
Sem N	2,38	60,27	21,94	667,27
½ Dose Recomendada	2,41	59,76	22,38	644,73
Dose Recomendada	2,88	53,86	21,78	676,28
CV(%)	25,87	26,40	4,01	10,75
	---------- Nível de significância ----------			
Inoculação (I)	ns	*	ns	Ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	Ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$.

Tabela 8. Valores de pH e teores de Al, Ca, Mg e K nas camadas de 20-40 e 40-60 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em junho de 2013.

Tratamentos	**pH**	**Al**	**Ca**	**Mg**	**K**
		---------- $mmol_c\ dm^{-3}$ ----------			
		---------- 20-40 cm ----------			
Inoculação					
Sem *Azospirillum*	4,77	1,83	26,44	8,33	1,81
Com *Azospirillum*	4,78	2,00	27,78	10,33	2,49
Com *Azospirillum* e gesso	4,80	2,00	30,11	9,33	2,08
CV (%)	2,45	30,90	12,03	54,28	43,28
Nitrogênio em cobertura					
Sem N	4,78	1,83	28,11	9,78	2,27
½ Dose Recomendada	4,79	2,11	28,33	8,67	1,89
Dose Recomendada	4,78	1,89	27,89	9,56	2,22
CV (%)	1,61	39,28	15,07	33,69	34,17
		---------- Nível de significância ----------			
Inoculação (I)	ns	ns	Ns	ns	Ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	ns	Ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	Ns
		---------- 40-60 cm ----------			
Inoculação					
Sem *Azospirillum*	5,01	0,67	24,94	10,83	1,70
Com *Azospirillum*	5,04	0,56	26,11	11,44	2,12
Com *Azospirillum* e gesso	5,01	0,44	28,11	10,00	1,37
CV (%)	3,77	112,25	12,42	34,61	47,81
Nitrogênio em cobertura					
Sem N	5,04	0,67	26,89	11,33	1,59
½ Dose Recomendada	5,02	0,44	26,33	9,77	1,96
Dose Recomendada	4,99	0,56	25,94	11,17	1,64
CV (%)	2,87	88,32	10,07	27,24	55,75
		---------- Nível de significância ----------			
Inoculação (I)	ns	ns	Ns	ns	Ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	Ns	ns	Ns
Interação I × N	ns	ns	Ns	ns	Ns

ns: não-significativo.

Tabela 9. Teores de P (Mehlich 1), $S\text{-}SO_4^{2-}$ (fosfato de cálcio), C orgânico e N total nas camadas de 20-40 e 40-60 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em junho de 2013.

Tratamentos	**P**	**$S\text{-}SO_4^{2-}$**	**C orgânico**	**N total**
	----- mg dm^{-3}-----		g dm^{-3}	mg dm^{-3}
	---------- 20-40 cm ----------			
Inoculação				
Sem *Azospirillum*	1,31	55,87b	21,52	545,53
Com *Azospirillum*	1,20	65,03b	21,35	563,57
Com *Azospirillum* e gesso	1,41	84,13a	21,40	545,53
CV (%)	80,30	6,06	1,85	31,72
Nitrogênio em cobertura				
Sem N	1,05	68,95	21,26	570,33
½ Dose Recomendada	1,18	67,92	21,65	518,48
Dose Recomendada	1,69	68,95	21,35	565,83
CV (%)	90,79	10,55	3,48	22,17
	---------- Nível de significância ----------			
Inoculação (I)	ns	**	Ns	Ns
Nitrogênio (N)	ns	Ns	Ns	Ns
Interação I × N	ns	ns	Ns	Ns
	---------- 40-60 cm ----------			
Inoculação				
Sem *Azospirillum*	1,37	64,56b	19,07	506,08
Com *Azospirillum*	1,14	63,80b	18,63	541,02
Com *Azospirillum* e gesso	0,88	74,08a	19,07	565,82
CV (%)	74,12	2,55	4,19	12,64
Nitrogênio em cobertura				
Sem N	0,99	71,16	18,85	538,77
½ Dose Recomendada	1,10	63,84	19,24	547,79
Dose Recomendada	1,30	67,43	18,68	526,37
CV (%)	66,17	9,59	5,04	10,46
	---------- Nível de significância ----------			
Inoculação (I)	ns	**	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$.

Para a coleta de solo realizada 44 meses após a implantação do experimento, não foi observada interação significativa entre os tratamentos de inoculação e doses de N em nenhuma das camadas de solo estudadas (Tabelas 10, 11, 12 e 13). Os tratamentos

envolvendo inoculação das sementes com *Azospirillum*, com ou sem gesso, não proporcionaram alterações significativas na acidez ativa e na acidez trocável (Al), bem como nos teores de Ca, Mg e K (Tabelas 10 e 12). Também não foram observadas respostas significativas desses tratamentos nos teores de P, de C orgânico particulado (COP), de C orgânico associado aos minerais (COAM), de N particulado (NP) e de N associado aos minerais (NAM) (Tabelas 11 e 13). Somente o uso de gesso proporcionou aumento no teor de sulfato na camada de 0-10 cm (Tabela 11). A adubação nitrogenada em cobertura reduziu os valores de pH e os teores de Ca na camada mais superficial do solo (Tabela 10), e não influenciou nenhum outro atributo químico do solo. A comparação dos resultados obtidos entre as coletas realizadas aos 8 e 44 meses após a implantação do experimento, na camada 0-10 cm, revela grande variação nos teores de K. Tal fato deve ter sido decorrente do manejo da adubação realizada na área experimental, tendo-se aplicado 120 kg ha^{-1} de K_2O nas culturas de milho e trigo para não realizar adubação na cultura da soja.

Ausência de resposta ao uso de inoculantes à base de *A. brasilense* nos valares de pH e nos teores de Al e K, na camada de 0-20 cm, também foram relatados por Hungria et al. (2010), após 3 anos de cultivo de milho utilizando as estirpes Ab-V5 e Ab-V6. Entretanto, esses autores observaram redução nos teores de Ca e Mg, atribuindo tal redução ao aumento da absorção desses nutrientes pelas culturas. Destaca-se, no presente estudo, que a área experimental recebeu calcário antes da instalação do estudo, o que provavelmente contribuiu na ausência de respostas a esses tratamentos.

A ausência de resposta da aplicação de gesso nos teores de Ca e P, após 44 meses, deve estar relacionada à dose relativamente baixa empregada. Para o P, foram adicionados 32,7 kg de P_2O_5 ha^{-1}; tal quantidade é facilmente exportada e/ou adsorvida pelos óxidos hidratados de Fe e Al presentes no solo devido à textura muito argilosa (RAIJ, 2011). Para o Ca, a ausência de resposta ao gesso deve ter sido decorrente do tempo decorrido após a aplicação. Caires et al. (2003) verificaram diminuição do efeito da utilização de 9 t ha^{-1} de gesso nos teores de Ca após 32 meses da aplicação.

O aumento no teor de sulfato ocorrido apenas na camada de 0-10 cm (Tabela 11) é contraditório ao resultado obtido por Caires et al. (2003), os quais observaram acúmulo de sulfato nas camadas mais profundas e uma queda acentuada na superfície após 32 meses da aplicação de gesso. A manutenção do efeito do uso de gesso no teor de sulfato apenas na camada superficial do solo pode estar relacionada ao aumento da extração de S pelas culturas associado à baixa translocação de S para os grãos, resultando em acúmulo desse nutriente nos resíduos culturais.

Tabela 10. Valores de pH e teores de Al, Ca, Mg e K nas camadas de 0-10 e 10-20 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em maio de 2016.

Tratamentos	**pH**	**Al**	**Ca**	**Mg**	**K**
		---------- $mmol_c\ dm^{-3}$ ----------			
		---------- 0-10 cm ----------			
Inoculação					
Sem *Azospirillum*	5,57	0,00	70,44	23,33	2,15
Com *Azospirillum*	5,61	0,00	77,33	26,78	2,55
Com *Azospirillum* e gesso	5,52	0,00	75,67	23,33	2,64
CV (%)	3,22	0,00	8,94	21,05	26,64
Nitrogênio em cobertura					
Sem N	5,66a	0,00	79,22a	24,89	2,27
½ Dose Recomendada	5,53b	0,00	74,22b	23,33	2,33
Dose Recomendada	5,51b	0,00	70,00b	25,33	2,60
CV (%)	1,43	0,00	5,05	13,67	33,43
		---------- Nível de significância ----------			
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	**	ns	**	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns
		---------- 10-20 cm ----------			
Inoculação					
Sem *Azospirillum*	4,81	3,44	27,00	8,00	1,40
Com *Azospirillum*	4,87	1,44	33,56	9,78	1,68
Com *Azospirillum* e gesso	4,73	3,78	30,56	9,00	1,74
CV (%)	5,92	57,69	16,93	37,87	49,04
Nitrogênio em cobertura					
Sem N	4,81	3,22	29,67	8,56	1,48
½ Dose Recomendada	4,82	2,89	30,56	8,78	1,74
Dose Recomendada	4,78	2,56	30,89	9,44	1,60
CV (%)	5,11	65,78	18,31	30,87	36,73
		---------- Nível de significância ----------			
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Tabela 11. Teores de P (Mehlich 1), $S\text{-}SO_4^{2-}$ (fosfato de cálcio), carbono orgânico particulado (COP), carbono orgânico associado aos minerais (COAM), nitrogênio particulado (NP) e nitrogênio associado aos minerais (NAM), nas camadas de 0-10 e 10-20 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo coletadas em maio de 2016.

Tratamentos	**P**	**$S\text{-}SO_4^{2-}$**	**COP**	**COAM**	**NP**	**NAM**
	----- mg dm^{-3}-----		----- g dm^{-3} -----		---- mg dm^{-3} ----	
	---------- 0-10 cm ----------					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	10,14	39,17b	2,56	23,58	153,90	2220,58
Com *Azospirillum*	12,07	34,17b	2,45	24,65	142,00	2440,51
Com *Azospirillum* e gesso	15,11	48,59a	2,51	25,46	151,66	2513,46
CV (%)	34,31	11,13	3,37	11,21	11,83	23,83
Nitrogênio em cobertura						
Sem N	13,06	32,73	2,52	24,78	154,51	2553,75
½ Dose Recomendada	13,79	42,06	2,50	24,06	149,20	2330,76
Dose Recomendada	10,48	47,32	2,40	24,84	143,84	2290,25
CV (%)	30,85	38,35	3,21	9,45	11,82	11,71
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	Ns	**	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	Ns	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	Ns	ns	ns	ns	ns	ns
	---------- 10-20 cm ----------					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	2,69	26,54	1,62	19,16	26,58	1824,42
Com *Azospirillum*	2,81	29,40	1,59	18,78	27,51	1571,29
Com *Azospirillum* e gesso	2,53	27,80	1,59	18,79	25,96	1503,88
CV (%)	38,82	52,64	4,59	11,52	10,00	28,12
Nitrogênio em cobertura						
Sem N	2,75	23,47	1,59	19,15	26,88	1591,45
½ Dose Recomendada	2,50	26,37	1,63	19,09	28,25	1649,75
Dose Recomendada	2,78	33,90	1,58	18,50	24,92	1658,39
CV (%)	66,57	48,83	4,01	15,16	19,73	16,79
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	Ns	ns	Ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	Ns	ns	Ns	ns	ns	ns
Interação I × N	Ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Tabela 12. Valores de pH e teores de Al, Ca, Mg e K nas camadas de 20-40 e 40-60 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo coletadas em maio de 2016.

Tratamentos	**pH**	**Al**	**Ca**	**Mg**	**K**
		---------- $mmol_c\ dm^{-3}$ ----------			
		---------- 20-40 cm ----------			
Inoculação					
Sem *Azospirillum*	4,94	2,00	26,56	8,78	1,04
Com *Azospirillum*	4,93	1,44	35,56	9,22	1,48
Com *Azospirillum* e gesso	4,81	1,67	32,11	9,22	1,42
CV (%)					
Nitrogênio em cobertura					
Sem N	4,90	1,78	31,78	9,78	1,18
½ Dose Recomendada	4,92	1,44	32,22	8,78	1,31
Dose Recomendada	4,87	1,89	30,22	8,67	1,46
CV (%)					
		---------- Nível de significância ----------			
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns
		---------- 40-60 cm ----------			
Inoculação					
Sem *Azospirillum*	5,18	1,00	28,00	9,56	0,70
Com *Azospirillum*	5,13	0,22	31,78	12,78	1,52
Com *Azospirillum* e gesso	4,99	0,78	30,78	9,67	1,09
CV (%)					
Nitrogênio em cobertura					
Sem N	5,10	0,67	32,22	10,22	0,86
½ Dose Recomendada	5,11	0,78	30,33	10,56	1,19
Dose Recomendada	5,09	0,56	28,00	11,22	1,27
CV (%)					
		---------- Nível de significância ----------			
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo.

A redução nos valores de pH ocasionados pelo uso N deve ter sido decorrente do grande potencial acidificante da reação de nitrificação (RAIJ, 1991). A acidificação é mais intensa quanto maior a dose e a frequência de aplicação de N (CAIRES, 2010).

Tabela 13. Teores de P (Mehlich 1), $S\text{-}SO_4^{2-}$ (fosfato de cálcio), carbono orgânico particulado (COP), carbono orgânico associado aos minerais (COAM), nitrogênio particulado (NP) e nitrogênio associado aos minerais (NAM), nas camadas de 20-40 e 40-60 cm do solo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. As amostras de solo foram coletadas em maio de 2016.

Tratamentos	**P**	**$S\text{-}SO_4^{2-}$**	**COP**	**COAM**	**NP**	**NAM**
	----- mg dm^{-3}-----		----- g dm^{-3} -----		---- mg dm^{-3} ----	
	---------- 20-40 cm ----------					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	1,60	33,95	1,49	18,24	23,47	1376,48
Com *Azospirillum*	1,77	27,30	1,47	16,42	26,32	1278,29
Com *Azospirillum* e gesso	4,83	39,56	1,48	17,04	25,63	11358,41
Nitrogênio em cobertura						
Sem N	4,23	32,36	1,47	16,94	25,11	1329,36
½ Dose Recomendada	1,99	31,90	1,50	117,94	27,40	1303,36
Dose Recomendada	1,99	36,56	1,48	16,80	22,91	1380,45
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	---------- 40-60 cm ----------					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	1,74	33,95	1,29	14,20	17,52	1094,69
Com *Azospirillum*	1,04	27,30	1,26	14,18	22,86	1159,42
Com *Azospirillum* e gesso	1,32	39,56	1,29	14,08	19,12	1014,79
Nitrogênio em cobertura						
Sem N	1,96	32,35	1,28	14,21	18,27	1151,01
½ Dose Recomendada	0,97	31,90	1,31	14,80	19,76	1108,62
Dose Recomendada	1,17	36,56	1,27	13,44	21,47	1009,27
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo.

Dessa forma, o aumento na quantidade de N aplicada na forma de ureia, em cobertura, justifica a pequena redução ocorrida no pH do solo. Em um estudo de longo prazo com a utilização de nitrato de amônio, Caires et al. (2015) observaram acidificação do solo com o aumento das doses de N aplicadas nas culturas de outono–inverno e, em outro estudo

utilizando doses de N na forma de ureia, Caires e Milla (2016) também observaram redução no pH do solo com o incremento das doses de N. A redução nos teores de Ca em decorrência da adubação nitrogenada também foi observada em outros estudos (CAIRES e MILLA, 2016, LANGE et al., 2006). A Aplicação de N na forma amoniacal ou de ureia gera íons H^+ e NO_3^- durante a nitrificação, sendo que o nitrato pode formar pares iônicos com cátions básicos como o Ca, aumentando a sua movimentação no perfil do solo (LANGE et al. 2006; FERNANDES et al. 2007).

4.2 CULTURA DO MILHO

4.2.1 Teores de Nutrientes nas Folhas de Milho

A análise estatística dos macronutrientes nas folhas de milho nas safras 2012-2013 e 2014-2015 (Tabela 14) revelou interação significativa entre os tratamentos de inoculação e doses de N em cobertura nos teores de P e S na primeira safra (2012-2013). De forma isolada, os tratamentos de inoculação promoveram alterações nos teores foliares de S nas duas safras. As doses de N ocasionaram aumento nos teores de N e S em ambas as safras e de P no primeiro cultivo. Os teores de N, P e K se mantiveram em níveis considerados adequados, e os de Ca, Mg e S estiveram abaixo dos níveis de suficiência estabelecidos por Malavolta et al. (1997) para a cultura.

O aumento na concentração de N no tecido foliar do milho com as doses de N aplicadas em cobertura foi decorrente de maior disponibilidade de N para as plantas ocasionadas pela adubação nitrogenada. Tais resultados já eram esperados devido à alta demanda de N pela cultura do milho. Diversos estudos têm mostrado resultados semelhantes (MELLO, ARZOLA e KIEHL, 1988; SILVA et al., 2005; GOMES et al., 2007; SORATTO et al. 2011; COSTA et al. 2012; CAIRES e MILLA, 2016).

O desdobramento da interação para os teores foliares de P na safra de 2012-2013 (Tabela 15) demonstrou aumento de P nas folhas com o uso de inoculante na ausência e presença de gesso com a aplicação de 80 kg N ha^{-1}. Tal resultado pode ter sido consequência de aumento no enraizamento (VOLFSON *et al.*, 2013) e na solubilização de P (RODRIGUEZ *et al.*, 2007) com o uso de *Azospirillum* sp. O aumento de P nas folhas de milho com a adubação nitrogenada, na ausência e presença do inoculante, pode ser atribuído ao efeito sinérgico entre N e P (MALAVOLTA e MORAES, 2007). A ausência de respostas no tratamento envolvendo gesso agrícola deve estar relacionado ao fornecimento adicional de

32,7 kg ha^{-1} de P_2O_5, reduzindo assim os efeitos de N na absorção desse nutriente. Aumentos nos teores de P nas folhas de milho em decorrência do uso de gesso também foram observados em outros estudos (CAIRES et al., 2011a, ZARDO FILHO, 2011).

Tabela 14. Concentrações de nutrientes nas folhas de milho nas safras de 2012-2013 e 2014-2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	---------- g kg^{-1} ----------					
	Milho (2012-2013)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	33,44	2,73	24,79	4,72	2,3	1,63b
Com *Azospirillum*	34,38	2,76	22,48	5,45	3,0	1,62b
Com *Azospirillum* e gesso	34,05	2,86	24,28	5,17	2,4	1,86a
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	31,44c	2,70b	23,55	5,11	2,6	1,60b
80	33,79b	2,77ab	23,66	5,23	2,7	1,59b
160	36,64c	2,87a	24,34	4,99	2,5	1,92a
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	*
Nitrogênio (N)	**	*	ns	ns	ns	**
Interação I × N	ns	*	ns	ns	ns	*
	Milho (2014-2015)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	33,01	2,78	23,49	5,02	2,92	1,58 b
Com *Azospirillum*	33,60	2,80	22,93	5,06	3,00	1,58 b
Com *Azospirillum* e gesso	33,41	2,86	23,10	5,19	2,79	1,74 a
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	31,24 c	2,76	23,0	4,84	2,75	1,57 b
80	33,01 b	2,83	23,4	5,11	2,82	1,60 ab
160	35,8 a	2,85	23,2	5,31	3,13	1,72 a
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	*
Nitrogênio (N)	**	ns	ns	ns	ns	*
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$.

Tabela 15. Desdobramento da interação para os teores de P nas folhas de milho na safra de 2012-2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}**			**Efeito**
	0	**80**	**160**	
	P foliar (g kg^{-1})			
Sem *Azospirillum*	2,63Ab	2,58Bb	2,96Aa	**
Com *Azospirillum*	2,61Ab	2,85Aa	2,81Aa	*
Com *Azospirillum* e gesso	2,85Aa	2,87Aa	2,85Aa	ns
Efeito	ns	*	ns	

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Tabela 16. Desdobramento da interação para os teores de S nas folhas de milho na safra de 2012-2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio (kg ha^{-1})**			**Efeito**
	0	**80**	**160**	
	S foliar (g kg^{-1})			
Sem *Azospirillum*	1,56ABab	1,46Bb	1,88Aa	*
Com *Azospirillum*	1,38Bb	1,48Bb	2,00Aa	**
Com *Azospirillum* e gesso	1,85Aa	1,85Aa	1,89Aa	ns
Efeito	**	*	ns	

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Para os teores de S foliar, o desdobramento da interação demonstrou benefícios na nutrição de S com o uso de gesso na ausência de adubação nitrogenada e na presença da menor dose N em cobertura (80 kg ha^{-1}), sendo observados efeitos positivos da adubação nitrogenada na nutrição de S nos tratamentos que não envolveram o uso de gesso (Tabela 16). Aumento no teor de S em função do uso de gesso na cultura do milho foi relatado por Caires et al. (1999, 2011a) e Zardo Filho (2011). De forma semelhante ao que foi observado para os teores de P, a utilização da maior dose de N resultou em teores mais elevados de S sem a utilização de gesso agrícola, o que comprova o sinergismo entre tais nutrientes descrito por Malavolta e Morais (2007). Resultados semelhantes foram obtidos por Zardo Filho (2011). Os efeitos isolados observados nos tratamentos de inoculação e de adubação nitrogenada na safra de 2014-2015 podem ser atribuídos aos mesmos fatores mencionados na primeira safra.

4.2.2 Extração de Nutrientes pela Cultura do Milho

A análise variância demonstrou respostas do uso de inoculante e gesso na extração de S na safra de 2014-2015 (Tabela 17). A adubação nitrogenada proporcionou alterações nos teores de Mg em ambos cultivos, de Ca e S no primeiro cultivo e de N no segundo cultivo. Foram observadas interações significativas entre os tratamentos de inoculação e doses de N na extração de N e Ca na safra de 2012-2013.

O aumento da extração de S em função da utilização de gesso, ocorrido apenas no segundo cultivo de milho (Tabela 17), deve estar relacionado com a diminuição nos teores de S no solo durante a realização do estudo (Tabela 13). Dessa forma, o aumento de sulfato observado na camada de 0-10 cm, após 44 meses da aplicação do gesso, certamente contribuiu para o aumento na extração de S. Zardo Filho et al. (2011) observou estreita correlação entre a extração de S pela cultura do milho e o teor de $S\text{-}SO_4^{-2}$ extraído com fosfato de cálcio na camada de 0-60 cm. A ausência de resposta ao uso de gesso e a resposta à aplicação de N na primeira safra para a extração de S sugere influência das camadas mais profundas no fornecimento de S para a cultura do milho na ausência de impedimento químico ao crescimento radicular, tendo em vista que as maiores alterações nos teores de sulfato entre as coletas de solo realizadas em 2013 e 2016 ocorreram em camadas abaixo de 10 cm de profundidade (Tabelas 7, 9, 11 e 13). A hipótese de os teores de S em profundidade terem contribuído na nutrição de S da cultura do milho está em conformidade com Cantarella e Montezano (2010), os quais sugerem que, em muitos casos, a avaliação do teor de sulfato em camadas mais profundas pode contribuir para a determinação das respostas das culturas à aplicação de S. Caires et al. (2016), avaliando a cultura do milho em condições de campo, observaram aumento no comprimento radicular das plantas, na camada de 0-60 cm, com aplicações de 120 e 180 kg N ha^{-1} comparadas à utilização de 60 kg N ha^{-1} na ausência de aplicação de gesso. Em casa de vegetação, utilizando colunas de solo indeformadas com 50 cm de profundidade, esses autores observaram respostas positivas no crescimento radicular com a aplicação de 180 kg N ha^{-1} em relação ao tratamento sem N quando foi aplicada uma dose equivalente a 10 t ha^{-1} de gesso. Portanto, o aumento no crescimento radicular que a adição de N proporciona possivelmente ocasionou aumento na extração de S pela cultura do milho em condições de elevada disponibilidade de S no subsolo.

Tabela 17. Extração de nutrientes pela cultura do milho nas safras de 2012-2013 e 2014-2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	----------kg ha^{-1}----------					
	Milho (2012-2013)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	256,47	42,28	277,69	29,56	36,63	18,38
Com *Azospirillum*	240,83	37,27	296,72	27,60	37,06	17,90
Com *Azospirillum* e gesso	253,47	39,65	303,83	30,07	35,22	18,78
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	211,72b	38,50	288,11	25,86b	30,86b	17,18b
80	261,27a	41,59	297,47	27,65b	33,18b	17,61b
160	277,48a	39,11	292,66	33,72a	44,88a	20,28a
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	**	ns	ns	**	**	**
Interação I × N	**	ns	ns	*	ns	ns
	Milho (2014-2015)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	193,73	28,78	236,23	20,62	29,65	11,74b
Com *Azospirillum*	203,70	31,48	250,20	19,95	30,72	12,34b
Com *Azospirillum* e gesso	222,77	31,65	256,88	22,39	29,30	14,40a
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	185,43a	29,60	237,41	18,58b	27,37b	12,31
80	209,45b	31,29	247,49	21,43a	29,53ab	12,86
160	225,33c	31,03	258,41	22,96a	32,79a	13,32
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	*
Nitrogênio (N)	**	ns	ns	**	*	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$.

O aumento na extração de Mg em função do uso de doses de N observada em ambas as safras de milho está relacionado com o sinergismo entre esses nutrientes, tendo em vista que ambos atuam conjuntamente na molécula de clorofila (MALAVOLTA e MORAIS, 2007; TAIZ et al., 2017). Ao se analisar conjuntamente os dados referentes à diagnose foliar (Tabela 14) e à extração de nutrientes da parte área (Tabela 17), observam-se diferenças nas respostas do Mg à adubação nitrogenada. Tais diferenças provavelmente estão relacionadas com a

mobilidade do Mg e do N nas plantas (TAIZ et al., 2017). Em condições de menor disponibilidade N, as plantas de milho extraíram menores quantidades de Mg; entretanto as plantas translocam os nutrientes das folhas do terço inferior para as regiões mais jovens, dificultando a detecção de alterações nutricionais de nutrientes móveis via diagnose foliar.

O desdobramento da interação para a extração de N pelo milho na safra de 2012-2013 (Tabela 18) demonstrou efeito da utilização de gesso apenas com a aplicação de 80 kg N ha^{-1}, sendo que houve aumento na extração de N com a adubação nitrogenada em todos os tratamentos de inoculação. A inoculação de *Azospirillum brasilense* na ausência de uso de gesso não alterou a extração de N em relação ao tratamento sem inoculação; dessa forma o aumento na extração de N observado no tratamento com inoculante e gesso na dose de 80 kg N ha^{-1} pode ser atribuído exclusivamente ao uso de gesso (Tabela 18). A relação entre a extração de N por plantas Poáceas e a disponibilidade de S no solo é bem documentada na literatura (CAMPOS, 2004; GYORÍ; 2005; BATISTA e MONTEIRO, 2006; SALVAGIOTTI e MIRALLES, 2008; SALVAGIOTTI et al., 2009). Caires et al. (2016) verificaram aumento na extração de N com a utilização de gesso em um solo com alta acidez no subsolo, observando aumentos lineares com a utilização de doses variando entre 0 e 15 t ha^{-1} quando foram utilizadas doses de 120 e 180 kg N ha^{-1}, e aumento quadrático com a utilização de 60 kg N ha^{-1}.

Tabela 18. Desdobramento da interação para a extração de N pela parte aérea da cultura do milho na safra de 2012-2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio**			**Efeito**
	0	**80**	**160**	
	Extração de N (kg ha^{-1})			
Sem *Azospirillum*	230,64Ab	251,89Bb	286,89Aa	**
Com *Azospirillum*	198,12Ac	242,87Bb	281,50Aa	**
Com *Azospirillum* e gesso	206,43Ab	289,07Aa	286,89Aa	**
Efeito	ns	**	ns	

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

O aumento na extração de N pelo milho na safra de 2014-2015 com as doses de N aplicadas em cobertura (Tabela 17) pode ser atribuído diretamente ao fornecimento deste nutriente pela adubação nitrogenada. Aumentos na massa seca e na concentração de N da parte aérea do milho em função da aplicação de N foram observados por Reis Junior et al. (2008), em plantas jovens. Dartora et al. (2013) e Marini et al. (2015) observaram que a

aplicação de N na cultura do milho aumentou a massa seca da parte aérea na fase vegetativa e no estádio R_3, respectivamente. Caires et al. (2016) observaram aumento na extração de N na maturidade fisiológica da cultura do milho com a dose de 180 kg N ha^{-1} em relação à dose de 60 kg N ha^{-1}, sem e com a aplicação de 15 t ha^{-1} de gesso.

O desdobramento da interação entre os tratamentos de inoculação e doses de N em cobertura para a extração de Ca pela parte aérea do milho na safra 2012-2013 demonstrou ausência de efeito da inoculação nas três doses de N estudadas (Tabela 19). O aumento da dose de N em cobertura aumentou a extração de Ca pelas plantas somente nos tratamentos com ou sem inoculação de *Azospirillum brasilense*, sem uso de gesso. No tratamento com *A. brasilense* e gesso, a adubação nitrogenada não influenciou de forma significativa a extração de Ca pelas plantas.

O aumento na extração de Ca em função da aplicação de N pode ser atribuído ao sinergismo entre N e Ca (MALAVOLTA e MORAES, 2007). O N proporciona aumento na divisão celular resultando em aumento na necessidade de Ca para a formação da parede celular (MARSCHNER, 2012; TAIZ et al., 2017). Tal fator também justifica o aumento na extração de Ca pelas plantas de milho de forma isolada com as doses N aplicadas em cobertura na segunda safra (Tabela 17).

Tabela 19. Desdobramento da interação para a extração de Ca pela parte aérea da cultura do milho na safra de 2012-2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio (Kg ha^{-1})**			**Efeito**
	0	**80**	**160**	
	Extração de Ca (kg ha^{-1})			
Sem *Azospirillum*	23,86Ab	27,97Aab	36,84Aa	**
Com *Azospirillum*	24,63Ab	22,89Ab	36,84Aa	**
Com *Azospirillum* e gesso	29,08Aa	32,10Aa	29,02Aa	ns
Efeito	ns	ns	ns	

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

4.2.3 Produtividade de Grãos de Milho

As análises estatísticas dos dados de produtividade de grãos de milho em 2012-2013 e 2014-2015, e a produtividade acumulada de milho nas duas safras não revelaram interação significativa entre os tratamentos de inoculação e doses de N em cobertura (Figura 1). As produtividades de milho em 2012-2013 (Figura 1A) e 2014-2015 (Figura 1C) bem como a

produtividade acumulada de milho nas duas safras (Figura 1E) não foram alteradas pelos tratamentos de inoculação com *Azospirillum brasilense*, com ou sem gesso agrícola. A ausência de resposta ao uso de *A. brasilense* contradiz diversos estudos (FULCHIERI e FRIONI, 1994; CAVALLET et al., 2000; QUADROS, 2009; HUNGRIA et al., 2010; NOVAKOWISKI et al., 2011; LANA et al., 2012; PEDROSA et al., 2019). Entretanto, cabe ressaltar que os benefícios na produtividade de milho com o uso de estirpes de *A. brasilense* normalmente têm sido obtidos em áreas sem adubação nitrogenada na implantação da cultura ou com doses relativamente baixas de N (até 30 kg N ha^{-1}). Segundo Fu et al. (1989), a nitrogenase sofre inativação na presença de elevadas quantidades de amônio. Destaca-se que a utilização de 45 kg N ha^{-1} na adubação de base da cultura do milho, no presente estudo, está de acordo com as recomendações de adubação vigentes para o Estado do Paraná (PAULETTI e MOTTA, 2017). A alta fertilidade do solo na área experimental (Tabela 3) e as condições climáticas favoráveis também contribuíram para a ausência de resultados significativos.

Em avaliações de campo, os benefícios da inoculação com *Azospirillum* sp. foram relacionados com o aumento do crescimento radicular e a consequente ampliação do volume de solo explorado pelas raízes para absorver água e nutrientes (CASSÁN e DÍAZ-ZORITA, 2016). Com base em 298 experimentos realizados na Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai, Díaz-Zorita et al. (2012) concluíram que as respostas do milho à inoculação com *Azospirillum* sp. foram maiores em condições estressantes durante o crescimento inicial das plantas. Quando ocorre escassez de água durante os estádios iniciais de crescimento das plantas, o efeito positivo da inoculação com *Azospirillum* sp. se torna mais evidente (CASSÁN e DÍAZ-ZORITA, 2016). Durante as condições iniciais do estresse, o *Azospirillum* sp. aumenta o comprimento, a superfície e o volume radicular em comparação com plantas não inoculadas (DOBBELAERE et al., 1999; KAPULNIK et al., 1985). Porém, sob intensa condição de estresse hídrico ou de limitação de nutrientes, as respostas à inoculação com *Azospirillum* sp. raramente são observadas (LANA et al., 2012; MEHNAZ et al., 2010; NAIMAN et al., 2009; NASERI et al., 2013). A ausência de resposta do milho ao uso de gesso certamente se deve aos teores suficientes de sulfato no solo nos tratamentos sem aplicação de gesso, mesmo após longo período (44 meses) da implantação do experimento (Tabela 11). Aumentos na produtividade de milho com a aplicação de gesso foram observados em outros estudos que apresentavam limitações químicas no subsolo para o crescimento radicular (CAIRES et al., 1999, 2004, 2011b, 2016; CAIRES, JORIS e CHURKA, 2011).

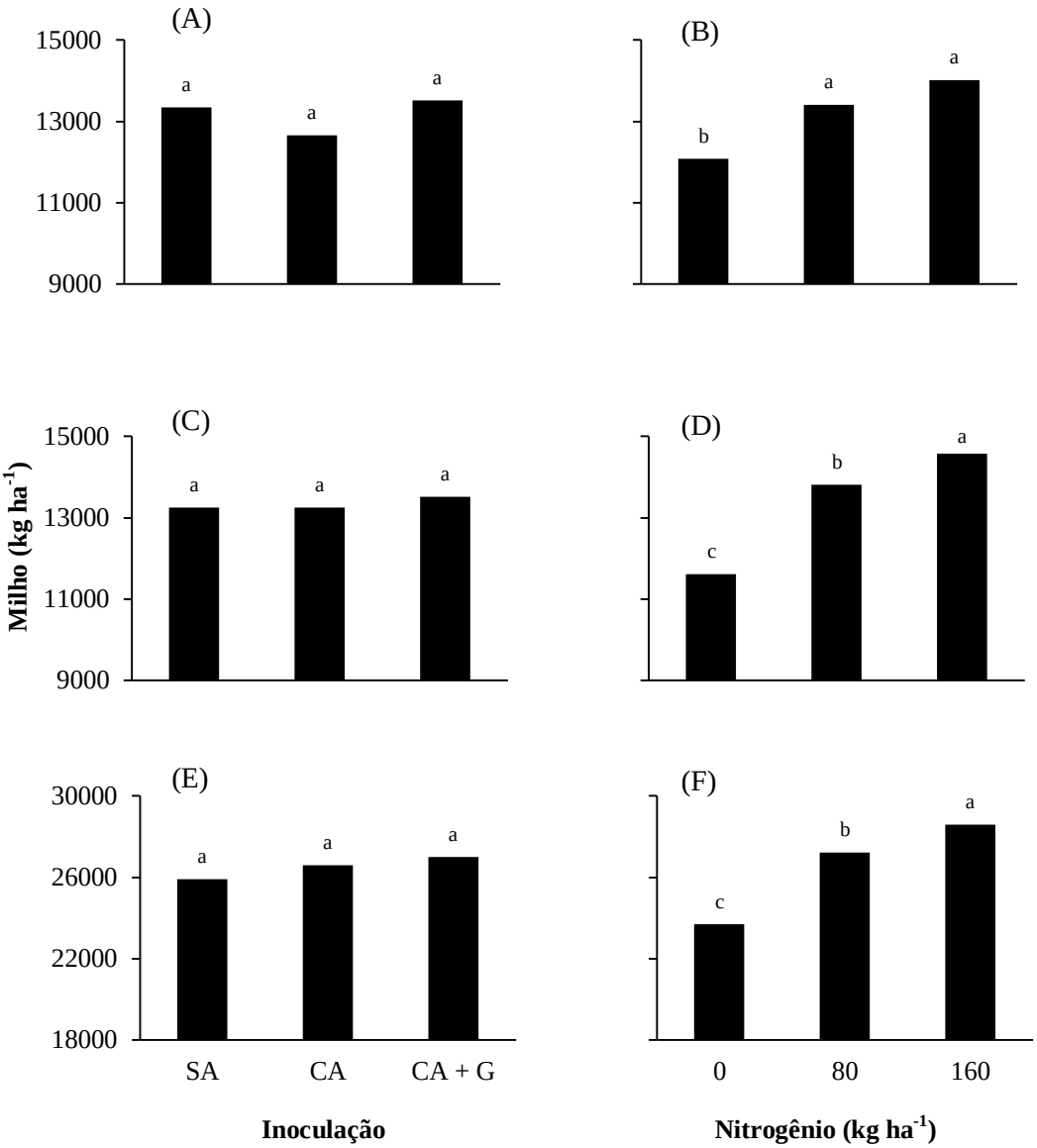


Figura 1. Produtividade de grãos de milho considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso, nas safras de 2012-2013 (A), 2014-2015 (C) e 2012-2013 + 2014-2015 (E), e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura, nas safras de 2012-2013 (B), 2014-2015 (D) e 2012-2013 + 2014-2015 (F), em sistema plantio direto. Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$. SA: Sem *Azospirillum*, CA: Com *Azospirillum*; CA + G: Com *Azospirillum* e gesso.

As doses de N aplicadas em cobertura aumentaram a produtividade de grãos de milho em relação ao tratamento sem aplicação de N em cobertura. Na primeira safra de milho (Figura 1B), houve um incremento médio de 1637 kg ha^{-1} de grãos com as doses de 80 e 160 kg N ha^{-1} em relação ao tratamento sem N em cobertura, o qual produziu 12078 kg ha^{-1}. Nessa primeira safra de milho (2012-2013), as diferenças entre as doses de 80 e 160 kg N ha^{-1} em cobertura não foram significativas. Na segunda safra de milho (Figura 1D) e no rendimento acumulado nas duas safras de milho (Figura 1F), houve diferenças significativas entre todas as doses de N utilizadas. Na safra de 2014-2015, as doses de 80 e 160 kg de N ha^{-1} em

cobertura promoveram aumentos na produtividade de 2201 e 2969 kg ha^{-1} respectivamente, sendo que a produtividade média obtida no tratamento sem N em cobertura foi de 11609 kg ha^{-1}. No rendimento acumulado nas duas safras de milho, os aumentos foram de 3532 e 4914 kg ha^{-1} de grãos com as doses de 80 e 160 kg N ha^{-1}, respectivamente.

Incrementos na produtividade de milho com o uso de N em cobertura são comuns na literatura (SCHMIDT et al., 2002; SOUZA e SORATTO, 2006; RAMBO et al., 2007; PAVINATO et al., 2008; CRUCIOL et al., 2011; VILELA et al., 2012; PITTA et al., 2013 MELLO, 2012, CAIRES et al., 2016; CAIRES e MILLA, 2016). Apesar de as respostas à adubação nitrogenada serem amplamente reportadas na literatura, dados referentes à altos tetos de rendimento de milho sem aplicação de N em cobertura ainda são escassos. No presente estudo, apesar de os incrementos no rendimento de grãos com as doses de N aplicadas em cobertura terem sido importantes, a produtividade de milho no tratamento sem aplicação de N em cobertura foi da ordem de 12000 kg ha^{-1}. Caires e Milla (2016) obtiveram produtividade de 16464 kg ha^{-1} sem a utilização de N em cobertura em um estudo realizado no município Condói (PR), em um Latossolo Vermelho manejado há 30 anos sob SPD. Tais resultados comprovam que as altas produtividades de milho obtidas sem aplicação de N em cobertura são consequência do manejo adequado do SPD durante longo período, resultando em elevado estoque de N no solo.

4.2.4 Teores de Nutrientes nos Grãos de Milho

A inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* proporcionou pequena redução no teor de N na safra de 2014-2015, e a aplicação de gesso aumentou o teor de S nos grãos de milho nas duas safras (Tabela 20). O aumento da dose de N em cobertura promoveu aumento nas concentrações de Mg nas duas safras, de N na safra de 2012-2013 e de K na safra de 2014-2015. Houve interação significativa entre os tratamentos de inoculação e doses de N para o teor de S nos grãos na primeira safra (2012-2013). Com exceção do S que apresentou concentrações nos grãos relativamente baixas, todos os demais nutrientes se mantiveram dentro de valores considerados normais para a cultura do milho (PAULETTI, 2004).

O aumento na concentração de N nos grãos observada no primeiro ano de cultivo em função do aumento das doses de N em cobertura era esperado, tendo em vista a alta capacidade de translocação desse nutriente (TAIZ et al., 2017). Pedrosa et al. (2019), em um estudo realizado em Ponta Grossa (PR) na safra de 2012-2013, observaram aumento na

concentração de N nos grãos de milho com a utilização de adubação em cobertura em comparação à aplicação de N apenas na semeadura.

Tabela 20. Concentrações de nutrientes nos grãos de milho nas safras de 2012-2013 e 2014-2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	----------g kg^{-1}----------					
	Milho (2012-2013)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	12,51	4,01	5,44	0,28	2,23	0,70b
Com *Azospirillum*	12,41	3,89	5,78	0,31	2,15	0,64b
Com *Azospirillum* e gesso	11,92	3,36	5,10	0,28	2,11	0,86a
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	11,57b	3,65	5,50	0,28	2,08b	0,67b
80	12,38ab	3,77	5,39	0,31	2,17ab	0,73ab
160	12,88a	3,84	5,44	0,28	2,24a	0,80a
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	**
Nitrogênio (N)	**	ns	ns	ns	*	*
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	**
	Milho (2014-2015)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	14,31a	3,94	5,73	0,31	2,17	0,70b
Com *Azospirillum*	13,16b	3,91	6,12	0,31	2,13	0,69b
Com *Azospirillum* e gesso	14,59a	3,71	5,44	0,32	2,11	0,88a
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	13,21	3,96	5,33b	0,30	2,08b	0,75
80	14,50	3,90	5,39b	0,31	2,13ab	0,75
160	14,35	3,71	6,57a	0,32	2,21a	0,78
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	*	ns	ns	ns	ns	*
Nitrogênio (N)	ns	ns	**	ns	*	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

A redução no teor de N nos grãos observada com a inoculação de *Azospirillum brasilense* nas sementes em relação à ausência de inoculação e à inoculação acompanhada do

uso de gesso contradiz os resultados obtidos em outros estudos realizados em Londrina e Ponta Grossa, os quais não revelaram alterações no teor de N nos grãos com a inoculação (HUNGRIA et al., 2010; PEDROSA et al., 2019). Tal efeito pode ter sido decorrente de diluição do nutriente nos tecidos dos grãos, tendo em vista que a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* não influenciou o teor de N nas folhas (Tabela 14) e a extração de N pelas plantas (Tabela 17) de milho, na safra de 2014-2015.

O aumento nos teores Mg, nas duas safras, e de K, na segunda safra (2014-2015) em função da adubação nitrogenada em cobertura deve estar ligado ao sinergismo entre esses nutrientes (MALAVOLTA e MORAES, 2007).

O desdobramento da interação para os teores de S nos grãos de milho na safra de 2012-2013 (Tabela 21) revelou que a utilização de gesso promoveu aumento nos teores de S nos grãos quando houve adubação nitrogenada em cobertura e que as doses de N promoveram aumento dos níveis de S nos grãos na ausência do uso de gesso. A ausência de resposta ao gesso na ausência de adubação nitrogenada se deve à menor demanda de S para a espiga decorrente da menor produtividade observada na ausência da adubação nitrogenada em cobertura. Dessa forma, mesmo o S tendo baixa mobilidade na planta, os níveis existentes no solo antes da instalação do estudo eram suficientes. O aumento do S nos grãos em função da adubação nitrogenada com o uso de gesso está relacionado com o aumento desse nutriente no solo associado com a dificuldade de redistribuição de S absorvido. Silva et al. (2003) observaram que 82% do total de S absorvido pela cultura do milho permaneceram na raiz, sendo o restante distribuído pela parte área. Sendo assim, a adubação nitrogenada em cobertura favoreceu a redistribuição do S absorvido para os grãos na presença de maior concentração de sulfato no solo proporcionada pela aplicação de gesso, apesar de o solo já apresentar níveis suficientes de S.

Tabela 21. Desdobramento da interação para os teores de S nos grãos de milho na de safra 2012-2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}**			**Efeito**
	0	**80**	**160**	
	S nos grãos (g kg^{-1})			
Sem *Azospirillum*	0,75Aa	0,68Ba	0,67Ba	ns
Com *Azospirillum*	0,69Aa	0,58Ba	0,64Ba	ns
Com *Azospirillum* e gesso	0,57Ab	0,94Aa	1,08Aa	**
Efeito	ns	**	**	

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

4.2.5 Eficiência na Utilização do Nitrogênio pelo Milho

A análise de variância não revelou interação significativa entre os tratamentos de inoculação × doses de N em cobertura para nenhuma das eficiências calculadas para a cultura do milho: eficiência agronômica (EA) e fator parcial de produtividade do N (FPP_N) em ambos os cultivos (Tabela 22).

A EA, calculada pelo incremento na produtividade de grãos de milho em relação à dose de N aplicada em cobertura, não foi alterada pela inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, associada ou não ao uso de gesso, em ambos os cultivos (Tabela 22). Também não houve alteração do FPP_N, calculado pela relação entre a produtividade de grãos de milho e a dose de N aplicada em cobertura, em função da inoculação com *Azospirillum brasilense* e uso de gesso. Tais resultados associados àqueles obtidos para nutrição foliar (Tabela 14), extração de nutrientes (Tabela 17), teor de nutrientes nos grãos (Tabela 20) e produtividade de grãos (Figura 1) indicam que para ambiente de alto rendimento de grãos sob SPD com manejo adequado da fertilidade do solo e na ausência de fatores ambientais adversos, a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, associada ou não ao uso de gesso, não beneficiou a cultura do milho. Destaca-se, no presente estudo, que o solo apresentava alto estoque de N em decorrência da adoção do SPD durante longa duração, e que não houve falta de chuvas durante o ciclo de desenvolvimento da cultura do milho no campo. Benefícios do uso de *Azospirillum* sp. foram encontrados em outros estudos realizados em condições de estresse hídrico (DÍAZ-ZORITA et al., 2012; CASSÁN e DÍAZ-ZORITA, 2016). Em relação ao uso de gesso, Caires et al. (2016) observaram aumento da eficiência de uso do N, avaliada pelo FPP_N, com a aplicação de até 15 t ha^{-1} de gesso. Porém, esse estudo foi realizado em solo com elevada toxicidade de Al em subsuperfície. No presente trabalho, a área experimental não apresentava características que justificassem o uso de gesso visando a melhoria do subsolo, tanto pela recomendação em vigor no momento da implantação do experimento (RAIJ et al., 1996) como pela nova recomendação proposta por Caires e Guimarães (2018). Nesse estudo, o gesso foi aplicado visando a manutenção de teores suficientes de sulfato no solo.

O incremento da dose de N em cobertura, de 80 kg ha^{-1} (½ dose recomendada) para 160 kg ha^{-1} (dose recomendada), não alterou significativamente a EA na primeira safra (2012-2013), mas ocasionou redução na EA no segundo cultivo (2014-2015) (Tabela 22). Já o FPP_N foi reduzido com o incremento da dose de N em cobertura, em ambas as safras. A ausência de resposta na EA na safra de 2012-2013 esteve relacionada com a alta produtividade obtida na

ausência de adubação nitrogenada de cobertura (Figura 1B), cujo rendimento de grãos foi superior a 12000 kg ha^{-1}, resultando em uma EA média de apenas 14,39 kg kg^{-1}. Esse valor de EA está abaixo da média mundial observada por Ladha et al. (2005) para a cultura do milho (24,2 kg kg^{-1}).

Tabela 22. Eficiência agronômica (EA) e fator parcial de produtividade do N (FPP_N) para a cultura do milho nas safras de 2012-2013 e 2014-2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamento	**EA**	**FPP_N**
	---------- kg kg^{-1} ----------	
	Milho (2012-2013)	
Inoculação		
Sem Azospirillum	7,34	127,12
Com Azospirillum	17,20	123,47
Com *Azospirillum* e gesso	18,62	132,30
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}		
80	16,63	167,62a
160	12,15	87,64b
	---------- Nível de significância ----------	
Inoculação (I)	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	**
Interação I × N	ns	ns
	Milho (2014-2015)	
Inoculação		
Sem Azospirillum	23,04	131,19
Com Azospirillum	24,95	132,39
Com *Azospirillum* e gesso	21,12	132,04
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}		
80	27,52a	172,63a
160	18,56b	91,12b
	---------- Nível de significância ----------	
Inoculação (I)	Ns	ns
Nitrogênio (N)	*	**
Interação I × N	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Entretanto, no segundo cultivo de milho (2014-2015) ocorreram maiores diferenças na produtividade entre os tratamentos sem N e com N em cobertura (Figura 1D), o que ocasionou valores mais elevados de EA e respostas para esse atributo. Diversos estudos têm relatado redução da EA com o aumento das doses de N (FERNANDES et al., 2005; FARINELLI e BORGES, 2010; AMADO, et al., 2013).

Apesar de o valor da EA ter sido inferior à média mundial no primeiro cultivo, na safra de 2014-2015 o valor de EA para a dose mais baixa de N (80 kg ha^{-1}) foi 27,52 kg kg^{-1}, sendo superior à média mundial (LADHA et al., 2005). Em ambas as safras de milho, a EA média do experimento esteve dentro dos valores encontrados por Doberman (2007), os quais estão entre 10 e 30 kg kg^{-1}.

O FPP_N foi reduzido com o aumento da dose de N em cobertura. O decréscimo na quantidade de grãos produzida por kg de N aplicado em função do aumento da dose de N é justificado pela lei dos incrementos decrescentes, sendo bem documentado na literatura (RAUN et al., 2002; FERNANDES et al., 2005; AMADO, 2013; CAIRES et al., 2016). De acordo com Dobermann (2007), em condições favoráveis de manejo, os valores de FPP_N para o milho encontram-se entre 40 e 80 kg kg^{-1}. Entretanto, em um estudo realizado na região os Campos Gerais do Paraná, Caires et al. (2016) obtiveram valor máximo de 108 kg kg^{-1} com a utilização de 60 kg N ha^{-1} em cobertura associada à aplicação de 10 t ha^{-1} de gesso. No presente estudo, os valores de FPP_N variaram de 87 a 171 kg kg^{-1}, ficando acima da média mundial que é de 72 kg kg^{-1} (LADHA et al., 2005). Todavia, deve-se considerar que o FPP_N foi calculado considerando somente as doses de N aplicadas em cobertura.

4.3 CULTURA DO TRIGO

4.3.1 Teores de Nutrientes nas Folhas de Trigo

As análises estatísticas dos dados de diagnose foliar de trigo nas safras de 2013 e 2015 (Tabela 23) e de 2016 (Tabela 24) revelaram grande variação nas respostas aos tratamentos entre as safras analisadas. Isso provavelmente se deve (i) às diferenças climáticas ocorridas entre as safras (Tabela 4), (ii) à utilização de genótipos de trigo diferentes e (iii) à alteração na rotação de culturas entre os cultivos. Em todas as safras avaliadas não houve interação significativa entre os tratamentos de inoculação e doses de N em cobertura para os teores de nutrientes nas folhas de trigo.

A inoculação das sementes com *A. brasilense* associada ao uso de gesso aumentou os teores foliares de N, na safra de 2013, e de Ca e S, na safra de 2016. Destaca-se que o gesso agrícola é uma excelente fonte de Ca e S para as plantas. A adubação nitrogenada proporcionou aumento nos teores de K e Mg, na safra de 2013, de N, na safra de 2015, e de N, P, K e S, na safra 2016. Os teores de N, P e K se mantiveram dentro dos níveis considerados normais, enquanto os teores de Ca, Mg e S estiveram abaixo dos níveis adequados estabelecidos por Malavolta et al. (1997) para a cultura do trigo.

O aumento gradual no teor foliar de N observado na safra de 2013 com o uso de inoculante e inoculante mais gesso demonstra que o efeito da inoculação de *A. brasilense* foi beneficiado com o uso de gesso. Hungria et al. (2010) encontraram inconsistência nos resultados dos experimentos realizados no Paraná (Londrina e Ponta Grossa). Em Londrina, não se observou qualquer alteração nos teores de macronutrientes, enquanto em Ponta Grossa foram observados incrementos nos teores foliares de N para as estirpes Ab-V5 e Ab-V6. No mesmo estudo foi observada redução nos níveis de nitrato no solo após a colheita do milho em função da inoculação das sementes com as estirpes Ab-V5 e Ab-V6, demonstrando aumento da capacidade de absorção de nitrato pelas culturas devido à inoculação. O uso de gesso contribuiu com o aumento do teor de N foliar possivelmente devido ao fornecimento de S, tendo em vista que o fornecimento de S favorece a absorção de N (SALVAGIOTTI et al., 2009). Além disso, o S faz parte da ferredoxina, e atua na redução do NO_3^- e na fixação de N_2 atmosférico (MENGEL & KIRKBY, 2001; MALAVOLTA & MORAES, 2007; VITTI e HEIRINCHS, 2007). O possível benefício do fornecimento adicional de S na fixação biológica e a ausência de efeito do gesso no teor de S foliar é plausível, pois grande parte do S absorvido permanece nas raízes (SILVA et al., 2003).

A ausência de resposta à inoculação e uso de gesso nas safras de 2015 e 2016 para o teor foliar de N pode ser atribuída às condições climáticas em 2015 e à rotação de culturas em 2016. Na safra de 2015, os volumes de precipitação pluvial estiveram muito acima da média da região e acarretaram prejuízos severos à cultura do trigo. Na safra de 2016, o sistema de rotação de culturas na área experimental foi modificado, sendo realizados os cultivos de soja, na estação de primavera–verão, e de nabo forrageiro, como planta de cobertura, no período entre abril e junho.

O incremento nos teores de K observados nas folhas de trigo nas safras de 2013 e 2016 em função das doses de N em cobertura (Tabelas 23 e 24) pode estar relacionado ao equilíbrio osmótico da planta, pois o aumento da divisão celular proporcionado pela adubação nitrogenada aumenta as quantidades de K necessárias para que o tecido vegetal mantenha-se

túrgido (TAIZ et al., 2017). Além disso, o K está relacionado à assimilação de N na forma de NH_4^+, aumentando a rapidez do processo, mitigando, assim, a toxidez causada pelo acúmulo de NH_4^+ nos tecidos (DIBB e WELCH, 1976).

Tabela 23. Concentrações de nutrientes nas folhas de trigo nas safras de 2013 e 2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	---------- g kg^{-1} ----------					
	Trigo (2013)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	34,81b	2,28	22,36	3,16	1,75	2,97
Com *Azospirillum*	35,62ab	2,29	21,69	3,44	1,87	3,04
Com *Azospirillum* e gesso	36,68[a]	2,40	22,65	3,49	1,73	3,05
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	34,25	2,28	21,01b	3,17	1,68b	2,96
40	36,40	2,31	22,53ab	3,44	1,81ab	2,92
80	36,46	2,37	23,15a	3,49	1,86a	3,18
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	**	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	*	ns	*	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Trigo (2015)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	38,61	2,38	24,06	3,26	1,80	2,97
Com *Azospirillum*	39,23	2,36	23,55	3,38	1,83	3,04
Com *Azospirillum* e gesso	38,80	2,41	23,94	3,72	1,87	3,05
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	36,99b	2,35	23,83	3,29	1,80	2,96
40	38,89ab	2,37	24,00	3,53	1,82	2,92
80	40,76a	2,43	23,83	3,53	1,88	3,17
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	**	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

O aumento na concentração de N no tecido foliar do trigo (Tabela 23 e 24) com as doses de N aplicadas em cobertura nas safras de 2015 e 2016 foi decorrente de maior disponibilidade de N para as plantas ocasionadas pela adubação nitrogenada. Tais resultados já eram esperados devido à alta demanda de N pela cultura do trigo. Aumentos na concentração de N nas folhas de trigo com a adubação nitrogenada em cobertura também foram encontrados em outros estudos (LOS GALETTO et al., 2017; TEIXEIRA FILHO et al., 2007; 2008; 2010; THEOGO 2014).

Tabela 24. Concentrações de nutrientes nas folhas de trigo na safra de 2016, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	----------g kg^{-1}----------					
	Trigo (2016)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	38,76	2,34	22,87	3,12b	1,78	2,79b
Com *Azospirillum*	40,13	2,36	23,10	3,19b	1,88	2,83b
Com *Azospirillum* e gesso	39,23	2,36	23,10	3,51a	1,78	3,03a
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	35,28b	2,30b	21,97b	3,13	1,76	2,83b
40	40,51a	2,33b	22,42b	3,30	1,87	2,88ab
80	42,34a	2,44a	24,68a	3,39	1,82	2,95a
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	*	ns	*
Nitrogênio (N)	**	**	**	ns	ns	*
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

O incremento nos teores de P nas folhas de trigo em função das doses de N aplicadas em cobertura na safra de 2016 (Tabela 24) pode ser atribuído ao sinergismo entre N e P (MALAVOLTA e MORAES, 2007), tendo em vista a maior demanda de compostos energéticos ricos em P decorrente da absorção de N. Segundo Taiz et al. (2017), cerca de 25% do total de energia consumida pela planta está ligada a processos envolvendo a assimilação de N.

Para os teores de S (Tabela 24), as alterações ocorridas podem ser atribuídas ao sinergismo entre N e S (MALAVOLTA e MORAES, 2007). A relação N/S nas folhas de

trigo, na safra de 2016, foi de 13,6/1, sendo que para a maioria das plantas cultivadas tal relação varia de 8/1 a 15/1 (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010). Efeitos benéficos do sinergismo entre N e S na cultura do trigo foram relatados por Salvagiotti et al. (2009). Los Galetto et al. (2017) obtiveram aumentos nos teores foliares de N, P e S em função a adubação nitrogenada em cobertura em estudo realizado sob condições climáticas semelhantes em um Latossolo Vermelho textura argilosa manejado sob SPD.

Entre 50 e 70% do N presente nas folhas está relacionado a enzimas associadas aos cloroplastos (CHAPMAN e BARRETO, 1997). Dessa forma, a adubação nitrogenada influencia diretamente o teor de clorofila no trigo (THEOGO et al., 2014). Considerando que o Mg é um componente fundamental da clorofila (TAIZ et al., 2017), o aumento de Mg em decorrência da adubação nitrogenada (Tabela 23) era esperado.

Além do efeito sinérgico do P, K, Mg e S com o N, os aumentos observados nos teores foliares de P, K, Mg e S com a adição de N também podem ter sido ocasionados pelo maior crescimento radicular proporcionado pela adubação nitrogenada (CAIRES et al, 2016; RAO et al., 1992; XUE et al. 2014).

4.3.2 Extração de Nutrientes pela Cultura do Trigo

Os resultados da análise de variância para a extração de macronutrientes pela cultura do trigo revelaram interação significativa entre os tratamentos de inoculação e doses de N para a extração de N, na safra de 2013 (Tabela 25). O desdobramento da interação para extração de N em 2013 demonstrou que os tratamentos envolvendo inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* ocasionaram aumento na extração de N pelas plantas em todas as doses de N empregadas (Tabela 26). Na ausência de adubação nitrogenada de cobertura, a inoculação isolada proporcionou a maior extração de N. Para a dose mais baixa de N (40 kg ha^{-1}), os tratamentos com inoculação de *Azospirillum brasilense*, com e sem o uso de gesso, não diferiram entre si, mas ambos apresentaram maior extração de N do que o tratamento sem inoculação. Para a maior dose de N (80 kg ha^{-1}), a inoculação de *A. brasilense* proporcionou maior extração de N somente com a utilização de gesso. As doses de 40 e 80 kg N ha^{-1} aplicadas em cobertura proporcionaram maior extração de N em relação ao tratamento sem N em cobertura somente nas parcelas que não receberam inoculação e naquelas que receberam inoculação e gesso. Quando as sementes foram inoculadas com *Azospirillum brasilense*, sem a adição de gesso, não houve aumento na extração de N com o incremento das doses de N aplicadas em cobertura porque a inoculação aumentou a extração de N pelas plantas na

ausência de adubação nitrogenada de cobertura. Esses resultados mostraram que a inoculação de *A. brasilense* favoreceu a absorção de N pela cultura do trigo quando não houve fornecimento de N via adubação nitrogenada de cobertura.

Tabela 25. Extração de nutrientes pela cultura do trigo nas safras de 2013 e 2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	----------kg ha^{-1}----------					
	Trigo (2013)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	106,88b	10,19b	182,47	12,79	10,27	11,72c
Com *Azospirillum*	125,83a	14,19a	189,12	17,26	14,55	14,64b
Com *Azospirillum* e gesso	131,47a	14,68a	199,71	17,99	14,55	16,85a
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-}						
0	102,83b	12,41b	164,51b	13,26	10,96	12,53b
40	126,89a	12,95ab	198,17a	17,37	13,89	14,75a
80	134,46a	13,70[a]	208,61a	17,40	13,99	15,94a
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	**	**	ns	ns	ns	**
Nitrogênio (N)	**	*	**	ns	ns	**
Interação I × N	**	ns	ns	ns	ns	ns
	Trigo (2015)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	85,87	8,06	109,28	8,66	7,52	7,70
Com *Azospirillum*	80,33	8,76	109,77	9,19	6,69	8,42
Com *Azospirillum* e gesso	98,93	9,81	124,64	9,03	8,12	9,42
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	78,47b	8,61	106,83	7,55	6,81	7,91
40	90,94ab	8,62	116,19	9,96	7,83	8,73
80	95,73a	9,39	120,67	9,37	7,69	8,90
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	*	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Para o trigo cultivado em 2013, também foram observados aumentos na extração de P e S pelas plantas com os tratamentos de inoculação com *Azospirillum brasilense* (Tabela 25). Para a extração de P foi possível observar que a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, com ou sem aplicação de gesso, aumentou a extração de P em relação ao tratamento sem inoculação. Portanto, o aumento na absorção de P pode ter sido consequência de maior enraizamento das plantas e de maior solubilização de fosfatos promovidas pela inoculação com *Azospirillum brasilense* (VOLFSON *et al.*, 2013; RODRIGUEZ *et al.*, 2007). A extração de S pelas plantas de trigo, em 2013, também foi aumentada pela inoculação de *Azospirillum brasilense*, principalmente quando a inoculação foi associada ao uso de gesso. O aumento de sulfato no solo proporcionado pela aplicação de gesso favoreceu a absorção de S pelas plantas, mas houve também efeito isolado do *A. brasilense* no aumento da extração de S pelo trigo. A inoculação com *Azospirillum brasilense* pode ter aumentado a demanda de S pela cultura por ter favorecido a absorção de N, visando manter uma adequada relação N/S (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010), e/ou aumentado o enraizamento das plantas, o que favorece a absorção do sulfato disponível do solo (VOLFSON *et al.*, 2013). A adubação nitrogenada proporcionou maior extração de P, K e S na safra de 2013 (Tabela 25), de N na safra de 2015 (Tabela 25) e de N e K na safra de 2016 (Tabela 27). Em 2016, houve ainda interação significativa entre os tratamentos de inoculação e doses de N em cobertura para a extração de S pelas plantas de trigo (Tabela 27). A extração de nutrientes pela cultura do trigo em 2015 (Tabela 25) foi bem menor do que a observada nas outras safras de trigo (2013 e 2016) devido ao excesso de chuvas ocorrido durante o desenvolvimento da cultura do trigo em 2015 (Tabela 4).

As respostas positivas da adubação nitrogenada na extração de P pelas plantas de trigo em 2013 (Tabela 25) podem estar relacionadas com o sinergismo N × P. A absorção de $N\text{-}NO_3^-$ é um processo ativo, requerendo energia metabólica para o transporte contra um gradiente de potencial eletroquímico, sendo necessárias maiores quantidades de ATP e, com isso, maior absorção de P (BREDEMEIER e MUNDSTOCK, 2001). Além disso, o aumento da disponibilidade de N proporcionado pela adubação nitrogenada de cobertura pode ter favorecido o crescimento radicular das plantas de trigo (CAIRES et al, 2016; RAO et al., 1992; XUE et al. 2014). Isto pode ter facilitado a absorção de P, já que a mobilidade desse nutriente no solo é baixa (SANTOS et al., 2008).

O aumento na extração de K pelas plantas de trigo em 2013 (Tabela 25) e 2016 (Tabela 27) com o incremento das doses de N em cobertura pode estar relacionado ao equilíbrio osmótico da planta, pois o aumento da divisão celular proporcionado pela adubação

nitrogenada aumenta as quantidades de K necessárias para que o tecido vegetal se mantenha túrgido (TAIZ et al.,2017). Além disso, o K está relacionado à assimilação de N na forma de NH_4^+, aumentando a rapidez do processo, mitigando, assim, a toxidez causada pelo acúmulo de NH_4^+ nos tecidos (DIBB e WELCH, 1976).

Tabela 26. Desdobramento da interação para a extração de N pela cultura do trigo na safra de 2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}**			**Efeito**
	0	**40**	**80**	
	Extração de N (kg ha^{-1})			
Sem *Azospirillum*	92,08Bb	108,01Ba	120,54Ba	**
Com *Azospirillum*	119,87Aa	130,51Aa	127,12Ba	ns
Com *Azospirillum* e gesso	96,54Bb	142,15Aa	155,72Aa	**
Efeito	**	**	**	

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Tabela 27. Extração de nutrientes pela cultura do trigo na safra de 2016, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	----------kg ha^{-1}----------					
	Trigo safra 2016					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	106,10	8,16	118,67	14,31	10,18	8,74
Com *Azospirillum*	117,35	9,73	117,84	12,77	10,60	8,25
Com *Azospirillum* e gesso	106,01	8,96	119,09	13,17	8,85	10,37
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	93,60c	9,25	100,22b	12,07	8,78	7,42b
40	109,98b	9,13	127,07a	12,04	10,04	9,45a
80	125,88a	8,46	128,31a	16,14	10,83	10,44a
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	**	ns	**	ns	ns	**
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	**

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

O desdobramento da interação para a extração de S pelas plantas de trigo na safra de 2016 revelou que nas parcelas sem inoculação (Tabela 28), houve maior extração de S pelas plantas com a aplicação da maior dose de N (80 kg ha^{-1}). Nas parcelas com inoculação de

Azospirillum brasilense, a maior absorção de S ocorreu a partir da dose de 40 kg N ha^{-1}. Já, nas parcelas com inoculação de *Azospirillum brasilense* e gesso, a adubação nitrogenada não alterou a extração de S pelas plantas porque a aplicação de gesso aumentou a extração de S no tratamento sem N em cobertura. Portanto, a extração de S pelas plantas de trigo deve ter sido favorecida tanto pelo incremento de sulfato no solo decorrente da aplicação de gesso quando o aporte de N via adubação foi baixo (0 e 40 kg N ha^{-1}) como também pela interação N × S quando o aporte de N via adubação foi alto (80 kg N ha^{-1}). As respostas distintas entre as safras de trigo obtidas na extração de nutrientes frente à inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* certamente foram decorrentes da complexidade dos mecanismos envolvendo a utilização de microrganismos de vida livre, pois as respostas estão relacionadas com a interação entre o genótipo, a comunidade microbiológica pré-existente e a disponibilidade de N no solo (ROESCH et al., 2006).

Tabela 28. Desdobramento da interação para a extração de S pela cultura do trigo na safra de 2016, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}**			**Efeito**
	0	**40**	**80**	
	Extração de S (kg ha^{-1})			
Sem *Azospirillum*	7,49ABb	7,36Bb	11,35Aa	**
Com *Azospirillum*	5,16Bb	9,72Aba	9,86Aa	**
Com *Azospirillum* e gesso	9,74Aa	11,27Aa	10,11Aa	ns
Efeito	**	**	ns	

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

4.3.3 Produtividade de Grãos de Trigo

A produtividade de grãos de trigo na safra de 2013 foi influenciada significativamente pela interação entre os tratamentos de inoculação e doses de N em cobertura (Figura 2). A produtividade de trigo foi significativamente mais alta com inoculação de *Azospirillum brasilense* no tratamento sem adubação nitrogenada em cobertura, e com a inoculação de *Azospirillum brasilense* mais gesso no tratamento com aplicação de 40 kg N ha^{-1} em cobertura (Figura 2A). Não houve alterações na produtividade de trigo com os tratamentos de inoculação quando se utilizou a maior dose de N em cobertura (80 kg ha^{-1}). A adubação nitrogenada em cobertura somente alterou a produtividade de trigo com a utilização de *Azospirillum brasilense* juntamente com o gesso, tendo-se obtido maior produtividade com

a aplicação de 40 kg N ha^{-1} (Figura 2B). A ausência de resposta do trigo à utilização da dose de 80 kg N ha^{-1} em cobertura deve ter sido ocasionada pelo acamamento das plantas observado na área experimental em decorrência do maior suprimento de N.

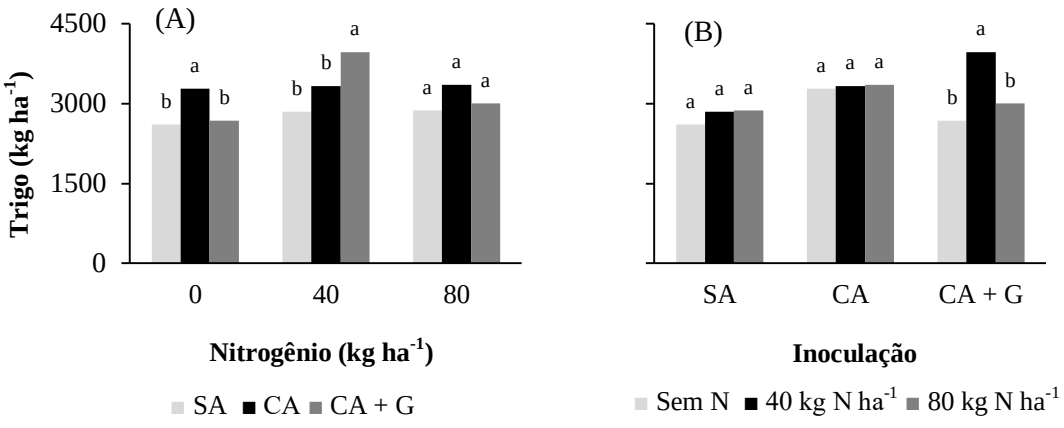


Figura 2. Produtividade de grãos de trigo na safra de 2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso (A) e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura (B) no sistema plantio direto. Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$. SA: Sem *Azospirillum*, CA: Com *Azospirillum*; CA + G: Com *Azospirillum* e gesso.

O aumento na produtividade de grãos de trigo em 2013 com a inoculação de *Azospirillum brasilense* na ausência de adubação nitrogenada em cobertura possivelmente está relacionado com o fornecimento de N via fixação biológica, tendo em vista o aumento na extração de N observada com o uso de *A. brasilense*. O aumento no rendimento de grãos de trigo com a inoculação de *A. brasilense* em comparação ao tratamento sem inoculação foi de 25%. Com a dose de 40 kg N ha^{-1} em cobertura, o aumento obtido no rendimento de grãos de trigo com a inoculação de *A. brasilense* associada ao uso de gesso foi de 39% em relação ao tratamento sem inoculação.

A adubação nitrogenada aumentou a produtividade de trigo, em 2013, somente na presença de inoculação de *Azospirillum brasilense* com gesso. Tal resposta pode ter sido influenciada por uma possível redução no acamamento das plantas em função do fornecimento adicional de Ca pelo gesso.

A produtividade de trigo na safra de 2015 (Figuras 3A e 3B) não foi influenciada pelos tratamentos de inoculação com *Azospirillum brasilense* ou pela adubação nitrogenada. A produtividade média de grãos de trigo do experimento nessa safra foi de apenas 1440 kg ha^{-1}. A ausência de resposta aos tratamentos e a baixa produtividade de trigo obtida nesse ano ocorreram em razão da precipitação pluvial muito acima da média histórica da região durante o ciclo da cultura (Tabela 4). A precipitação pluvial ocorrida em 2015 foi quase o dobro da

média histórica da região, fazendo com que praticamente todo o trigo produzido na região dos Campos Gerais do Paraná, nesse ano, fosse utilizado para a produção de ração.

Na safra de 2016 (Figuras 3C e 3D) não houve interação significativa entre os tratamentos de inoculação e doses de N em cobertura, tendo-se observado resposta apenas da adubação nitrogenada (Figura 3D). A produtividade de grãos de trigo foi significativamente maior com utilização de 80 kg N ha^{-1} em relação ao tratamento sem N em cobertura. A utilização da dose de N recomendada (80 kg ha^{-1}) proporcionou aumento de 523 kg ha^{-1} na produtividade de grãos. As diferenças nas respostas às doses de N aplicadas nas safras de 2013 e 2016 podem ser estar relacionadas com a mudança dos genótipos de trigo utilizados, considerando que o cultivar TBIO Sinuelo apresenta porte mais baixo que o cultivar Quartzo, o que o torna mais resistente ao acamamento (TBIO, 2019).

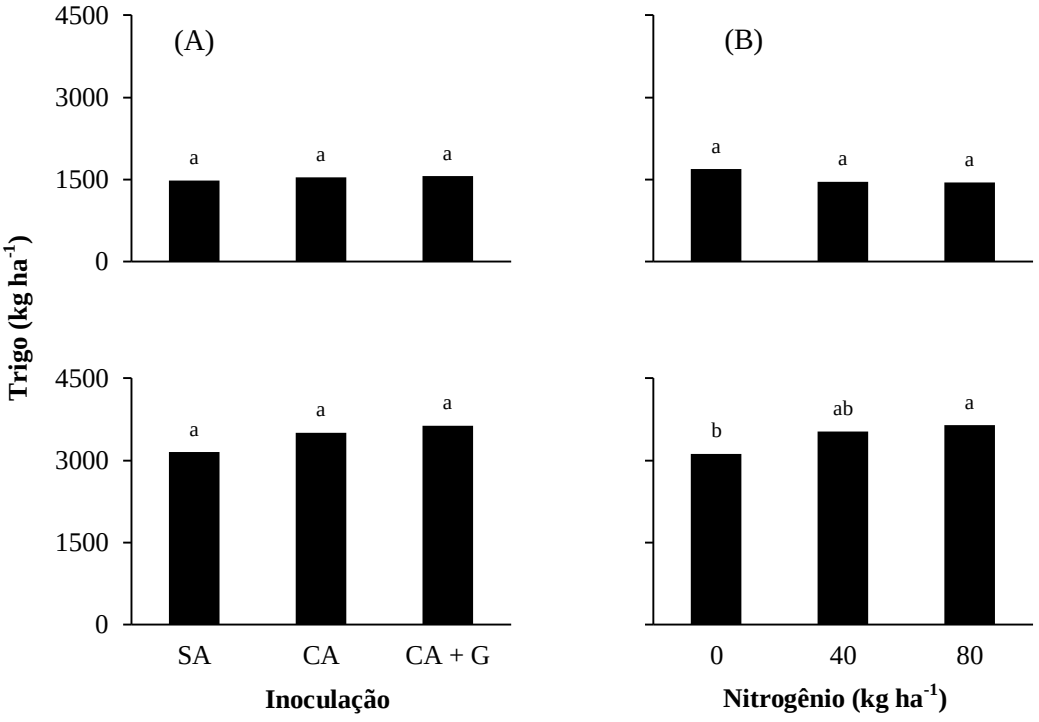


Figura 3. Produtividade de grãos de trigo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso nas safras de 2015 (A) e 2016 (C), e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura nas safras de 2015 (B) e 2016 (D), no sistema plantio direto. Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a P = 0,05. SA: Sem *Azospirillum*, CA: Com *Azospirillum*; CA + G: Com *Azospirillum* e gesso.

Devido às condições atípicas de excesso de chuvas ocorridas na safra de trigo de 2015, as quais resultaram em produtividades de grãos muito aquém das esperadas para ambiente de alta tecnologia, os dados de rendimento de grãos dessa safra não foram utilizados no cálculo da produtividade acumulada de grãos. A análise de variância da produção

acumulada de trigo nos anos de 2013 e 2016 revelou interação significativa entre os tratamentos de inoculação e doses de N em cobertura (Figura 4).

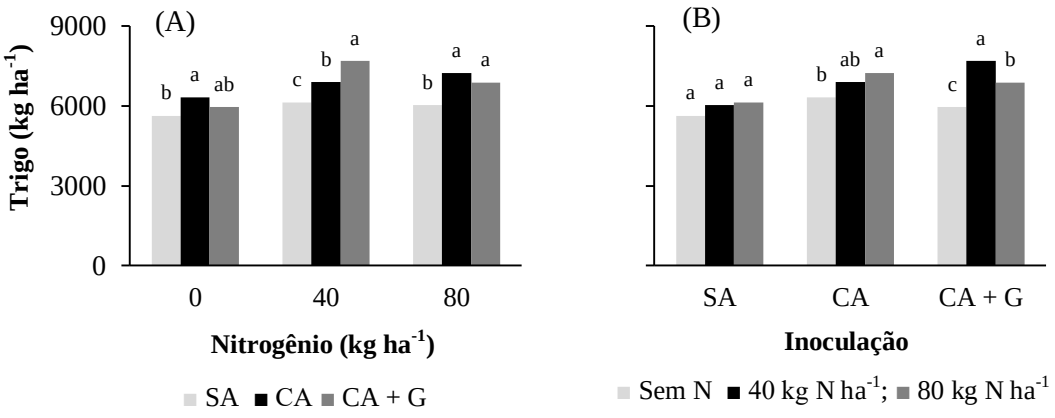


Figura 4. Produtividade acumulada de grãos de trigo nas safras de 2013 e 2016, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso (A) e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura (B) no sistema plantio direto. Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$. SA: Sem *Azospirillum*, CA: Com *Azospirillum*; CA + G: Com *Azospirillum* e gesso.

A inoculação das sementes com *A. brasilense* proporcionou produtividade acumulada de trigo maior que o tratamento sem inoculação em todos os tratamentos de N em cobertura (Figura 4A). Quando se empregou ½ da dose de N recomendada (40 kg ha^{-1}), a produtividade acumulada de trigo foi significativamente maior no tratamento com inoculação de *Azospirillum brasilense* mais gesso em relação à inoculação de *A. brasilense* sem adição de gesso. Hungria et al. (2010) obtiveram aumento de 27% na produtividade de trigo, na ausência de aplicação de N no perfilhamento da cultura, por meio da utilização das mesmas estirpes (Ab-V5 e Ab-V6) de *Azospirillum brasilense* empregadas no presente estudo. Incrementos na produtividade de trigo com a utilização de *Azospirillum brasilense* na presença de baixas doses de N também foram relatados em outros estudos (DÍAZ-ZORITA e CANIGIA, 2008; PICCININ et al., 2011, 2012). O aumento na produtividade acumulada de trigo observado com a utilização de inoculação de *A. brasilense* e gesso na dose de 40 kg N ha^{-1} deve ter sido ocasionado pelo aumento na absorção de N promovido pela inoculação associada ao fornecimento de Ca e S. Benefícios do fornecimento de Ca por meio da aplicação de nitrato de cálcio na cultura do trigo foram observados em condições semelhantes de solo e clima aos do presente estudo (LOS GALETTO et al., 2017).

A adubação nitrogenada em cobertura proporcionou aumento no rendimento acumulado de grãos de trigo somente na presença de inoculação com *A. brasilense* (Figura

4B). Respostas na produtividade à utilização de N em cobertura na cultura do trigo são bem documentadas na literatura (FREITAS et al., 1994, 1995; BREDEMIER E MUNDSTOCK, 2001; HEINEMANN et al., 2006; TEIXEIRA FILHO et al., 2007, 2010; BOSCHINI et al. 2011; MELLO, 2012; THEOGO et al., 2014; LOS GALETTO et al., 2017). Entretanto, estudos demonstrando respostas positivas ao uso de N em cobertura apenas na presença de inoculação com *A. brasilense* não têm sido relatados.

4.3.4 Teores de Nutrientes nos Grãos de Trigo

Os teores de nutrientes nos grãos de trigo nas safras de 2013 e 2015 (Tabela 29) e de 2016 (Tabela 30) estiveram em níveis iguais ou superiores aos reportados por Pauletti (2004).

Observou-se interação significativa entre os tratamentos de inoculação e doses de N em cobertura somente para os teores de N nos grãos, na safra de 2013. Isoladamente, a inoculação não promoveu alteração nos teores de macronutrientes nos grãos de trigo em nenhuma das três safras. A adubação nitrogenada aumentou os teores de N, na safra de 2015, e de N, P e S, na safra de 2016.

O desdobramento da interação para os teores de N nos grãos de trigo na safra de 2013 (Tabela 31) demonstrou um pequeno aumento no teor de N nos grãos com a inoculação das sementes e uso de gesso em relação à inoculação isolada. A adubação nitrogenada proporcionou aumento dos teores de N nos grãos em todos os tratamentos de inoculação. Ausência de diferença significativa entre os teores de N nos grãos de trigo com o uso de *Azospirillum brasilense* foi reportada no estudo de Hungria et al. (2010).

O aumento no teor de P nos grãos de trigo em 2016 com a maior dose de N aplicada em cobertura (80 kg N ha^{-1}) deve estar ligado ao sinergismo N × P. A absorção de N-NO_3^- é um processo ativo, requerendo energia metabólica para o transporte contra um gradiente de potencial eletroquímico, sendo necessárias maiores quantidades de ATP e, com isso, maior absorção de P (BREDEMEIER e MUNDSTOCK, 2001). Além disso, o aumento de N proporcionado pela adubação de cobertura pode ter favorecido o crescimento radicular do trigo (XUE et al. 2014), facilitando a absorção de P, já que a mobilidade desse nutriente no solo é baixa (SANTOS et al., 2008).

Tabela 29. Concentrações de nutrientes nos grãos de trigo nas safras 2013 e 2015, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	----------g kg^{-1}----------					
	Trigo (2013)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	19,68	2,74	3,92	0,32	1,25	0,82
Com *Azospirillum*	19,41	2,76	4,32	0,31	1,32	0,77
Com *Azospirillum* e gesso	19,99	2,80	3,81	0,35	1,24	0,86
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	18,43c	2,85	4,09	0,32	1,25	0,77
40	19,57b	2,73	3,98	0,33	1,28	0,81
80	21,08a	2,71	3,98	0,33	1,27	0,87
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	**	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	*	ns	ns	ns	ns	ns
	Trigo (2015)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	26,35	4,76	7,47	0,35	1,23	0,83
Com *Azospirillum*	27,69	5,34	7,53	0,36	1,28	0,83
Com *Azospirillum* e gesso	26,41	4,71	7,42	0,36	1,23	0,88
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	25,04b	4,99	7,53	0,35	1,25	0,85
40	26,51b	4,72	7,25	0,36	1,24	0,84
80	28,90a	5,09	7,64	0,37	1,25	0,85
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	**	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

O aumento nos teores de S nos grãos ocorrido na safra 2016 com a adubação nitrogenada de cobertura deve estar relacionada à interação N × S. O fornecimento de N aumenta os teores de proteínas nos grãos resultando no aumento de aminoácidos que contém S em sua composição (TEA et al., 2005). Salvagiotti et al. (2009), estudando os efeitos do fornecimento de N e S na cultura do trigo, demonstraram influência do

fornecimento de S no aproveitamento de N da adubação nitrogenada. O aumento do S observado apenas no último ano de cultivo de trigo também pode estar relacionado ao decréscimo nos teores de S no solo ocorrido ao longo dos anos. Assim, o aumento do enraizamento das plantas proporcionado pela adição de N (XUE et al. 2014) pode ter aumentado o aproveitamento de sulfato no perfil do solo.

Tabela 30. Concentrações de nutrientes nos grãos de trigo na safra de 2016, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	----------g kg^{-1}----------					
	Trigo (2016)					
Inoculação						
Sem *Azospirillum*	20,88	3,04	4,71	0,30	1,21	1,61
Com *Azospirillum*	21,93	3,09	4,99	0,29	1,28	1,71
Com *Azospirillum* e gesso	20,94	3,15	4,77	0,31	1,21	1,61
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	18,48b	2,91b	4,99	0,30	1,24	1,44b
40	21,90a	3,06b	4,88	0,31	1,25	1,71a
80	23,36a	3,31a	4,60	0,30	1,22	1,77a
	---------- Nível de significância ----------					
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	**	**	ns	ns	ns	**
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Tabela 31. Desdobramento da interação para os teores de N nos grãos de trigo na safra de 2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}**			**Efeito**
	0	**40**	**80**	
	N nos grãos (g kg^{-1})			
Sem *Azospirillum*	17,92Ac	19,79Ab	21,33Aba	**
Com *Azospirillum*	18,11Ab	20,02Aa	20,11Ba	**
Com *Azospirillum* e gesso	19,27Ab	18,90Ab	21,79Aa	**
Efeito	ns	ns	*	

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

4.3.5 Eficiência na Utilização do Nitrogênio pelo Trigo

A análise de variância revelou interação significativa entre os tratamentos de inoculação e doses de N em cobertura para a EA e o FPP_N na safra de trigo de 2013 (Tabela 32).

Tabela 32. Eficiência agronômica (EA) e fator parcial de produtividade do N (FPP_N) para a cultura do trigo nas safras de 2013 e 2016, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamento	**EA**	**FPPN**
	---------- kg kg^{-1} ----------	
	Trigo (2013)	
Inoculação		
Sem Azospirillum	4,61b	53,56b
Com Azospirillum	1,05b	62,50ab
Com *Azospirillum* e gesso	18,23a	68,36a
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}		
40	13,18a	84,52a
80	2,75b	38,43b
	---------- Nível de significância ----------	
Inoculação (I)	*	*
Nitrogênio (N)	*	**
Interação I × N	*	*
	Trigo (2016)	
Inoculação		
Sem Azospirillum	4,27	60,82
Com Azospirillum	11,74	69,00
Com *Azospirillum* e gesso	9,09	70,78
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}		
40	10,19	88,19a
80	6,54	45,54b
	---------- Nível de significância ----------	
Inoculação (I)	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	**
Interação I × N	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Na safra de 2016 somente foram observados efeitos isolados da adubação nitrogenada para o FPP_N. Devido aos problemas climáticos ocorridos na safra de 2015, os quais resultaram em produtividades de trigo muito baixas e ausência de resposta aos tratamentos empregados, a avaliação da eficiência do N nessa safra não foi realizada.

Para o FPPN, o desdobramento da interação na safra de 2013 (Tabela 34) demonstrou que o tratamento com inoculação de A. brasilense e gesso aumentou a eficiência somente quando foi empregada a menor dose de N em cobertura (40 kg ha-1). O FPPN foi reduzido com o aumento da dose de N em cobertura na presença e na ausência de inoculação e gesso.

O aumento na eficiência de utilização do N (EA e FPP_N) com a inoculação de *Azospirillum* associado ao uso do gesso quando a dose mais baixa de N foi aplicada em cobertura (40 kg ha^{-1}) pode ser atribuído à FBN e ao aumento da absorção do N fornecido via fertilizante (HUNGRIA et al., 2010). Tais benefícios possivelmente foram potencializados pelo uso do gesso, pois o fornecimento de S aumenta o efeito da adubação nitrogenada na cultura do trigo (SALVAGIOTTI et al., 2008; SALVAGIOTTI e MIRALLES, 2008).

Tabela 33. Desdobramento da interação para eficiência agronômica (EA) do trigo na safra de 2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}**		**Efeito**
	40	**80**	
	EA (kg kg^{-1})		
Sem *Azospirillum*	5,95Ba	3,27Aa	ns
Com *Azospirillum*	1,22Ba	0,89Aa	ns
Com *Azospirillum* e gesso	32,36Aa	4,10Ab	**
Efeito	**	ns	

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Na safra de 2016, a ausência de respostas na EA e FPP_N aos tratamentos de inoculação pode ser atribuída à alteração no sistema de rotação de culturas, pois o trigo foi semeado sob a palhada de soja e nabo forrageiro, duas culturas que apresentam resíduos com baixa relação C/N. Isso deve ter inibido os possíveis benefícios do fornecimento de N via fixação biológica e/ou da absorção do N mineral presente no solo devido ao uso de *Azospirillum brasilense* (HUNGRIA et al., 2010) e também do fornecimento de S via gesso (SALVAGIOTTI et al., 2008; SALVAGIOTTI e MIRALLES, 2008).

Tabela 34. Desdobramento da interação para o fator parcial de produtividade do N (FPP_N) do trigo na safra de 2013, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}**		**Efeito**
	40	**80**	
	FPP_N (kg kg^{-1})		
Sem *Azospirillum*	71,23Ba	35,91Ab	**
Com *Azospirillum*	83,15Ba	41,85Ab	**
Com *Azospirillum* e gesso	99,20Aa	37,52Ab	**
Efeito	**	ns	

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

A diminuição dos valores de FPP_N na cultura do trigo com o aumento das doses de N está de acordo com a lei dos incrementos decrescentes, pois com a elevação das doses de N maiores quantidades desse nutriente são utilizadas para o crescimento vegetativo e não diretamente na produtividade de grãos.

Os valores de EA, de forma geral, foram inferiores á média mundial, de 18,1 kg kg^{-1}, descrita por Ladha et al. (2005). Uma única exceção foi observada no primeiro cultivo com a utilização de inoculação e gesso na dose de 40 kg N ha^{-1} que apresentou um valor de 32,36 kg kg^{-1}. Em contrapartida, os valores do FPP_N foram muito superiores à média mundial, de 44,5 kg kg^{-1}, descrita por Ladha et al. (2005), quando foram utilizados 40 kg N ha^{-1} em cobertura, e estiveram próximos da média mundial quando se empregou a maior dose de N (80 kg ha^{-1}). Entretanto, cabe destacar que a realização de tais cálculos foi feita apenas com as doses de N aplicadas em cobertura.

4.4 CULTURA DA SOJA

4.4.1 Teores de Nutrientes nas Folhas de Soja

Devido ao fato de a adubação nitrogenada na cultura da soja ter sido realizada após a coleta de folhas para a diagnose foliar, a análise estatística foi realizada considerando apenas os tratamentos de inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. Os teores de nutrientes nas folhas de soja cultivada em 2013-2014 e 2015-2016 não foram alterados pelos tratamentos de inoculação, sendo observado aumento no teor foliar de S em função do uso de gesso na safra de 2016-2017 (Tabela 35). Com exceção dos teores de Mg na safra de 2013-

2014 e de S em todos os cultivos, as concentrações dos demais nutrientes se mantiveram em níveis considerados normais para a cultura da soja (MALAVOLTA et al., 1997).

Ao analisar os teores de S nas três safras estudadas (Tabela 35), é possível observar que os teores na safra de 2016-2017 foram um pouco menores que nos anos anteriores. Tal fato pode estar relacionado com a redução nos teores de sulfato no solo observados na coleta realizada em 2016 (Tabela 11) em relação à de 2013 (Tabela 7). Dessa forma, a manutenção de teores mais altos de sulfato na camada superficial do solo com o uso de gesso justifica a resposta na nutrição foliar de S nessa última safra. O aumento no teor de S foliar na cultura da soja com a aplicação de gesso está de acordo com os resultados obtidos em outros estudos (CAIRES et al., 2003; 2011a,b; RAMPIM et al., 2011; ZANDONÁ et al., 2015). A ausência de resposta dos demais nutrientes aos tratamentos de inoculação está relacionada com a alta fertilidade do solo da área experimental.

Tabela 35. Concentrações de nutrientes nas folhas de soja nas safras de 2013-2014, 2015-2016 e 2016-2017, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	----------g kg^{-1}----------					
	Soja (2013-2014)					
Sem *Azospirillum*	49,01	3,67	27,44	9,32	2,14	1,68
Com *Azospirillum*	48,53	3,26	26,65	9,22	2,33	1,58
Com *Azospirillum* e gesso	50,04	3,72	27,21	9,64	2,17	1,69
Efeito	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Soja (2015-2016)					
Sem *Azospirillum*	48,04	3,66	27,38	8,51	4,20	1,50
Com *Azospirillum*	48,56	3,71	27,21	8,36	4,34	1,55
Com *Azospirillum* e gesso	48,78	3,91	26,71	8,25	4,33	1,67
Efeito	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Soja (2016-2017)					
Sem *Azospirillum*	46,51	3,70	26,42	9,38	4,13	1,45b
Com *Azospirillum*	47,16	3,72	26,88	9,23	4,13	1,45b
Com *Azospirillum* e gesso	48,66	3,75	26,82	9,38	4,19	1,60a
Efeito	ns	ns	ns	ns	ns	*

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

4.4.2 Extração de Nutrientes pela Cultura da Soja

Para a extração de nutrientes pela cultura da soja foram observadas interações significativas entres os tratamentos de inoculação com *Azospirillum brasilense* e doses de N para os teores foliares de N, K, Ca, Mg e S na primeira safra de soja (2013-2104) (Tabela 36). A extração de Ca foi aumentada com a inoculação de *Azospirillum brasilense* associada ao uso de gesso e com a aplicação da maior dose de N em cobertura (50 kg ha^{-1}) na safra de 2015-2016 (Tabela 36), e também houve incremento na extração de K com a aplicação da maior dose de N em cobertura (50 kg ha^{-1}) na safra de 2016-2017 (Tabela 37).

O aumento da extração de Ca observado na safra de 2015-2016 (Tabela 36) pode ser atribuído ao fornecimento de Ca com a aplicação de gesso e ao aumento no crescimento radicular das plantas quando a maior dose de N (50 kg ha^{-1}) foi aplicada em cobertura.

O aumento na extração de K pela soja ocorrido com a aplicação de 50 kg N ha^{-1} em cobertura na safra de 2016-2017 (Tabela 37) pode estar relacionado com o equilíbrio osmótico da planta, pois o aumento da divisão celular proporcionado pela adubação nitrogenada aumenta as quantidades de K necessárias para que o tecido vegetal se mantenha turgido (TAIZ et al.,2017). Além disso, o K está relacionado à assimilação de N na forma de NH_4^+, aumentando a rapidez do processo, mitigando, assim, a toxidez causada pelo acúmulo de NH_4^+ nos tecidos (DIBB e WELCH, 1976).

O desdobramento da interação para a extração de N da cultura da soja na safra de 2013-2014 (Tabela 38) demonstrou que a co-inoculação de *Azospirillum brasilense* reduziu a extração de N na ausência de adubação nitrogenada e quando foram aplicados 25 kg N ha^{-1} em cobertura. Observou-se também aumento na extração de N pelas plantas com a utilização de 25 kg N ha^{-1} em cobertura no tratamento em que as sementes foram inoculadas apenas com *Bradyrhizobium japonicum* (sem *Azospirillum*).

Tabela 36. Extração de nutrientes pela cultura da soja nas safras de 2013-2014 e 2015-2016, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	----------kg ha^{-1}----------					
	Soja (2013-2014)					
Co-inoculação						
Sem *Azospirillum*	295,01a	23,26	249,64	61,66	35,22	11,74b
Com *Azospirillum*	250,82b	22,45	238,79	58,68	34,47	11,77b
Com *Azospirillum* e gesso	262,27b	27,01	240,22	59,90	34,22	12,89[a]
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	264,91	24,13	226,36a	60,01	33,90b	12,00ab
25	276,00	24,97	244,07a	62,82	37,20a	12,72[a]
50	267,19	23,63	258,23b	57,41	32,81b	11,68b
	---------- Nível de significância ----------					
Co-inoculação (I)	**	ns	ns	ns	ns	*
Nitrogênio (N)	ns	ns	**	ns	**	*
Interação I × N	**	ns	**	*	**	**
	Soja (2015-2016)					
Co-inoculação						
Sem *Azospirillum*	244,80	21,29	263,82	69,23b	38,59	12,05
Com *Azospirillum*	245,67	21,71	221,16	68,23b	36,84	11,58
Com *Azospirillum* e gesso	243,66	23,84	256,01	76,78a	38,69	13,38
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	239,31	21,97	237,47	69,80b	38,54	12,30
25	245,64	22,03	245,41	69,40b	37,20	12,00
50	249,18	22,83	258,11	75,03a	38,37	12,72
	---------- Nível de significância ----------					
Co-inoculação (I)	ns	ns	ns	*	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	*	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Os desdobramentos das interações entre a inoculação e as doses de N para a extração de K (Tabela 39), Ca (Tabela 40) e Mg (Tabela 41), na safra de 2013-2014, demonstraram aumento na extração desses nutrientes com o emprego de 25 kg N ha^{-1} em cobertura quando as sementes foram inoculadas apenas com *Bradyrhizobium japonicum* (sem *Azospirillum*). Consequentemente, a co-inoculação de *Azospirillum brasilense*, nesse tratamento de N (25 kg

ha^{-1}), reduziu a extração de tais nutrientes. Esses resultados mostraram que nas sementes de soja tratadas somente com *Bradyrhizobium japonicum* (sem *Azospirillum*), a adição de 25 kg N ha^{-1} em estádio avançado de desenvolvimento da cultura (R_3) potencializou a extração de K, Ca e Mg pelas plantas, provavelmente devido ao sinergismo entre esses nutrientes e o N (MALAVOLTA e MORAES, 2007).. Porém, tal efeito positivo na extração de K, Ca e Mg pela soja não foi mais observado quando as sementes foram co-inoculadas com *Azospirillum brasilense* e também quando a dose de N foi aumentada para 50 kg ha^{-1}. A ocorrência de um possível desequilíbrio hormonal nas plantas com a co-inoculação de *Azospirillum brasilense* (HUNGRIA et al., 2013), nesse caso, pode ser considerada. Deve-se considerar também que, no presente estudo, foi utilizado genótipo de soja com crescimento indeterminado e porte alto. Tais características aumentam a suscetibilidade ao acamamento, principalmente em ambientes de maior altitude e em solos de alta fertilidade, presentes na área experimental (EMBRAPA, 2019). Tais fatores associados com o incremento da dose de N aplicada em cobertura deve ter potencializado o acamamento da plantas.

Tabela 37. Extração de nutrientes pela cultura da soja na safra de 2016-2017, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	----------kg ha^{-1}----------					
	Soja (2016-2017)					
Co-inoculação						
Sem *Azospirillum*	318,68	19,74	242,85	61,14	34,52	11,03
Com *Azospirillum*	307,07	20,29	220,13	61,08	33,05	9,92
Com *Azospirillum* e gesso	334,30	21,61	236,82	66,34	34,52	11,55
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	335,31	19,70	217,81b	62,76	33,97	10,49
25	293,91	20,36	230,04ab	60,32	33,17	10,63
50	330,84	21,58	251,96a	65,47	34,96	11,38
	---------- Nível de significância ----------					
Co-inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	*	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Tabela 38. Desdobramento da interação para a extração de N pela cultura da soja na safra de 2013-2014, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}**			**Efeito**
	0	**25**	**50**	
	Extração de N (kg ha^{-1})			
Sem *Azospirillum*	286,90Ab	328,96Aa	269,18Ab	**
Com *Azospirillum*	263,16ABa	240,48Ba	267,32Aa	ns
Com *Azospirillum* e gesso	244,67Ba	258,57Ba	265,08Aa	ns
Efeito	*	**	ns	

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Tabela 39. Desdobramento da interação para a extração de K pela cultura da soja na safra de 2013-2014, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}**			**Efeito**
	0	**25**	**50**	
	Extração de K (kg ha^{-1})			
Sem *Azospirillum*	240,68Ab	299,16Aa	209,08Ac	**
Com *Azospirillum*	243,07Aa	241,60Ba	231,71Aa	ns
Com *Azospirillum* e gesso	248,47Aa	233,92Ba	238,28Aa	ns
Efeito	ns	**	ns	

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Tabela 40. Desdobramento da interação para a extração de Ca pela cultura da soja na safra de 2013-2014, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}**			**Efeito**
	0	**25**	**50**	
	Extração de Ca (kg ha^{-1})			
Sem *Azospirillum*	60,98Aab	73,11Aa	50,88Ab	**
Com *Azospirillum*	57,81Aa	58,66Ba	59,54Aa	ns
Com *Azospirillum* e gesso	61,24Aa	56,66Ba	61,81Aa	ns
Efeito	ns	**	ns	

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

O desdobramento da extração de S na safra de 2013-2014 (Tabela 42) demostrou aumento na extração desse nutriente com a utilização de co-inoculação e gesso agrícola em relação à inoculação isolada de *B. japonicum* na ausência de adubação nitrogenada e na presença da maior dose de N (50 kg ha^{-1}). Como não foram observadas diferenças entre a co-inoculação de *Azospirillum brasilense* em relação à inoculação padrão com *B. japonicum*, tais

alterações foram decorrentes da aplicação de gesso. Essas respostas devem estar relacionadas com o aumento de sulfato no solo proporcionado pela utilização de gesso (Tabela 11). Repostas semelhantes foram reportadas por Los Galetto (2016), sendo tais resultados atribuídos ao aumento nos teores de sulfato no solo. Assim, como nas demais interações, a dose de 25 kg N ha^{-1} proporcionou um pico de absorção de S no tratamento sem co-inoculação, sendo que tal aumento na extração de S deve estar ligado à necessidade da cultura manter uma relação N/S adequada (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010).

Tabela 41. Desdobramento da interação para a extração de Mg pela cultura da soja na safra de 2013-2014, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}**			**Efeito**
	0	**25**	**50**	
	Extração de Mg (kg ha^{-1})			
Sem *Azospirillum*	32,88Ab	42,41Aa	30,40Ab	**
Com *Azospirillum*	33,28Aa	35,16Ba	34,95Aa	ns
Com *Azospirillum* e gesso	35,55Aa	34,02Ba	33,08Aa	ns
Efeito	ns	**	ns	

ns: não-significativo; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Tabela 42. Desdobramento da interação para a extração de S pela cultura da soja na safra de 2013-2014, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}**			**Efeito**
	0	**25**	**50**	
	Extração de S (kg ha^{-1})			
Sem *Azospirillum*	10,96Bb	13,86Aa	10,42Bb	**
Com *Azospirillum*	11,57Ba	11,66Ba	12,08ABa	ns
Com *Azospirillum* e gesso	13,47Aa	12,65Aba	12,54Aa	ns
Efeito	**	*	*	

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$. Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

4.4.3 Produtividade de Grãos de Soja

A análise dos dados de produtividade da soja não revelou interação significativa entre os tratamentos de co-inoculação e doses de N em cobertura para as três safras estudadas e para o rendimento acumulado de grãos (Figura 5). No primeiro cultivo de soja (2013-2014), a produtividade de grãos foi significativamente menor com a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. Nos demais cultivos de soja (2015-2016 e 2016-2017), os

tratamentos de co-inoculação com *A. brasilense* não ocasionaram alterações significativas na produtividade de grãos. Apesar da redução na produtividade ocorrida com a co-inoculação de *A. brasilense* no primeiro cultivo de soja, o rendimento acumulado de grãos, nas três safras de soja, não foi alterado significativamente pelos tratamentos.

A adubação nitrogenada em cobertura não proporcionou alterações significativas na produtividade de soja em nenhumas das safras avaliadas, bem como na produtividade acumulada de grãos.

A redução ocorrida na produtividade de grãos de soja na safra de 2013-2014 com a co-inoculação (Figura 5) pode estar relacionada com a dose de inoculante à base de *Azospirillum brasilense* utilizada (3,5 mL kg^{-1} de sementes). No primeiro cultivo de soja, a dose de inoculante foi calculada buscando atingir $1,2 \times 10^5$ UFC $semente^{-1}$ (HUNGRIA et al., 2013), sendo utilizado como base de cálculo o peso médio de 1000 sementes de 170 g. A definição dessa dose de inoculante baseou-se nos aumentos na produtividade de soja obtidos no estudo de Hungria et al. (2013) com a co-inoculação das estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense* via semente. Porém, como a utilização *A. brasilense* em dose elevada pode prejudicar a nodulação e a produtividade da soja, possivelmente por causa de produção excessiva de fitormônios que inibem o crescimento (HUNGRIA et al., 2013), deduziu-se que, no primeiro cultivo de soja, a dose de inoculante utilizada foi excessiva. Sendo assim, nas demais safras de soja, a dose de inoculante à base de *A. brasilense* foi reduzida para 2,0 mL kg^{-1} de sementes, a qual é atualmente recomendada pelo fornecedor do inoculante. A utilização dessa dose de inoculante em co-inoculação das sementes de soja não prejudicou o rendimento de grãos, mas também não ocasionou melhoria na produtividade.

A ausência de resposta da soja à adubação nitrogenada está de acordo com as atuais recomendações de adubação para a cultura da soja no estado do Paraná (PAULETTI e MOTTA, 2017). Tais resultados discordam dos observados por La Menza et al. (2017) que obtiveram resposta à adubação nitrogenada em áreas com produtividade superior a 2500 kg ha^{-1}. Nos dois primeiros cultivos, com produtividade média de 4040 e 3829 kg ha^{-1} de grãos, respectivamente, a ausência de resposta da soja é discordante dos resultados obtidos por Wesley et al. (1998) que observaram respostas positivas em áreas com produtividade superior a 3700 kg ha^{-1}. Entretanto, tais resultados estão em conformidade com os obtidos por Salvagiotti et al. (2008). Esses autores obtiveram respostas positivas à adubação nitrogenada na cultura da soja em 75% das áreas com produtividades acima de 4500 kg ha^{-1} (produtividade superior às obtidas no presente estudo: 4040, 3829 e 3400 kg ha^{-1} de grãos, respectivamente, em 2013-2014, 2015-2016 e 2016-2017).

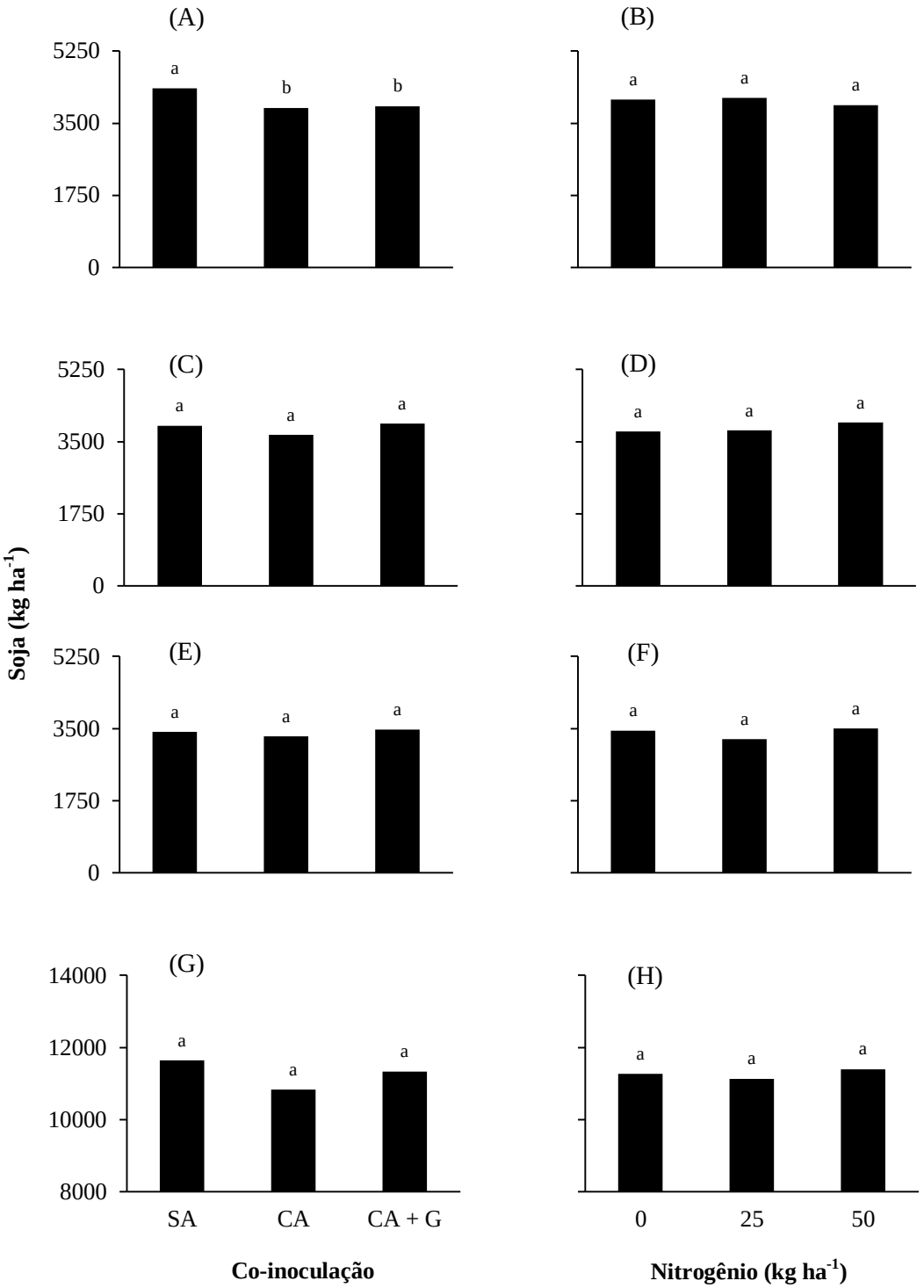


Figura 5. Produtividade de grãos soja, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso nas safras de 2013-2014 (A), 2015-2016 (C), 2016-2017 (E) e 2013-2014 + 2015-2016 + 2016-2017 (G), e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura nas safras de 2013-2014 (B), 2015-2016 (D), 2016-2017 (F) e 2013-2014 + 2015-2016 + 2016-2017 (H), no sistema plantio direto. Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a P = 0,05. SA: Sem *Azospirillum*, CA: Com *Azospirillum*; CA + G: Com *Azospirillum* e gesso.

Respostas positivas em áreas com potencial produtivo mais baixo foram observadas somente em áreas com problemas de fertilidade, baixas temperaturas, estresse hídrico e

problemas de nodulação nas plantas devido à ausência de inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e/ou ausência de cultivo anterior com soja, o que não é o caso da área utilizada no presente estudo. A ausência de resposta da soja à adubação nitrogenada em estádio avançado de desenvolvimento da cultura (R_3) indica que o processo de FBN foi eficiente para atender a demanda de N da cultura da soja para o alcance de produtividade da ordem de 4000 kg ha^{-1}.

4.4.4 Teores de Nutrientes nos Grãos de Soja

As análises estatísticas dos dados referentes aos nutrientes nos grãos de soja revelaram ausência de resposta da co-inoculação em todas as safras estudadas (Tabelas 43 e 44), tendo-se observado aumento no teor de N nos grãos com a aplicação de 25 kg N ha^{-1} em cobertura somente na safra de 2015-2016 (Tabela 43). Os teores de N, P, K e Mg nos grãos se mantiveram em níveis iguais ou superiores, enquanto os teores de Ca e S nos grãos estiveram em níveis mais baixos aos reportadas por Pauletti (2004).

A ausência de efeito da co-inoculação, com ou sem uso de gesso, nos teores de nutrientes nos grãos de soja possivelmente se deve à alta fertilidade do solo (Tabela 3) associada à alta eficiência da inoculação com *B. japonicum*. Além disso, a ausência de resposta ao uso de gesso pode estar relacionada ao sistema radicular da soja que apresenta alta CTC radicular, resultando em maior facilidade na absorção de cátions, e à alta capacidade de absorção de S pelas raízes da soja devido a elevada quantidade de proteínas produzidas pela cultura (MARSCHNER, 2012).

Os teores de N nos grãos de soja não foram alterados com as doses de N aplicadas em cobertura no primeiro e terceiro cultivos por causa da alta capacidade de translocação do N absorvido via FBN, tendo em vista que aproximadamente 90% do N presente nos grãos de soja são provenientes da FBN (MASTRODOMENICO e PURCELL, 2012). Na segunda safra de soja, o aumento no teor de N nos grãos observado com a aplicação de 25 kg de N ha^{-1} em comparação com o tratamento sem N pode estar relacionado às safras de milho e trigo cultivadas anteriormente e que não receberam adubação nitrogenada em cobertura, o que pode ter levado à redução e/ou imobilização do N mineral presente no solo (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010).

Tabela 43. Concentrações de nutrientes nos grãos de soja nas safras de 2013-2014 e 2015-2016, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	----------g kg^{-1}----------					
	Soja (2013-2014)					
Co-inoculação						
Sem *Azospirillum*	56,03	5,58	26,87	1,76	2,54	1,65
Com *Azospirillum*	53,71	5,61	26,54	1,69	2,55	1,77
Com *Azospirillum* e gesso	55,67	5,76	27,04	1,68	2,58	1,79
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	53,70	5,60	26,26	1,65	2,55	1,75
25	55,48	5,64	26,76	1,79	2,59	1,72
50	56,23	5,71	27,43	1,68	2,55	1,73
	---------- Nível de significância ----------					
Co-inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Soja (2015-2016)					
Co-inoculação						
Sem *Azospirillum*	58,40	9,50	25,13	1,08	1,76	1,65
Com *Azospirillum*	55,53	9,74	25,47	1,13	1,98	1,57
Com *Azospirillum* e gesso	56,87	9,71	25,47	1,21	1,81	1,72
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	53,88b	9,73	25,63	1,10	1,72	1,74
25	60,35a	9,57	25,24	1,16	1,89	1,59
50	56,56ab	9,65	25,19	1,18	1,94	1,62
	---------- Nível de significância ----------					
Co-inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	*	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo; *: $P < 0,05$. Letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a $P = 0,05$.

Tabela 44. Concentrações de nutrientes nos grãos de soja na safra de 2016-2017, considerando a co-inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* com e sem gesso e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	**N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S**
	----------g kg^{-1}----------					
	Soja (2016-2017)					
Co-inoculação						
Sem *Azospirillum*	65,05	9,49	25,75	1,08	1,89	1,64
Com *Azospirillum*	65,24	9,56	25,75	1,15	1,99	1,61
Com *Azospirillum* e gesso	64,96	9,51	25,07	1,12	1,82	1,66
Nitrogênio em cobertura, kg ha^{-1}						
0	65,77	9,54	25,52	1,13	1,91	1,65
25	64,84	9,50	25,18	1,08	1,83	1,65
50	64,65	9,52	25,52	1,13	1,95	1,61
	---------- Nível de significância ----------					
Co-inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Interação I × N	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo.

5 CONCLUSÕES

- A inoculação das sementes de milho, trigo e soja com *Azospirillum brasilense* em sistema plantio direto de longa duração não alterou os atributos químicos do solo e os teores de C e N. O uso de gesso agrícola aumentou os teores de sulfato no perfil do solo (0-60 cm) e os níveis de P e Ca na camada superficial do solo (0-10 cm). Sucessivas aplicações de N via ureia em cobertura ocasionaram acidificação na camada superficial do solo (0-10 cm).
- A inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense*, com ou sem o uso de gesso, não proporcionou alterações relevantes na nutrição das plantas, e não alterou a produtividade de grãos e a eficiência da adubação nitrogenada. A dose de N recomendada para a cultura do milho não deve ser reduzida com a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* em ambiente de alto rendimento de grãos sob plantio direto.
- A cultura do trigo foi mais responsiva à inoculação com *Azospirillum brasilense* e ao uso de gesso como fonte de S, apresentando respostas na nutrição da planta, na produtividade e na eficiência da adubação nitrogenada. A inoculação das sementes de trigo com *Azospirillum brasilense* possibilitou reduzir a dose de N para ½ da dose recomendada em cobertura com aumento nos tetos de rendimento de grãos, especialmente quando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* foi associada ao uso de gesso agrícola.
- A inoculação das sementes de soja com de *Bradyrhizobium japonicum* foi capaz de suprir a demanda de N pela cultura da soja em ambiente com alto potencial de rendimento de grãos. A co-inoculação das sementes de soja com *Azospirillum brasilense*, com ou sem o uso de gesso agrícola, não alterou de forma relevante a nutrição da planta e não ocasionou benefícios no rendimento de grãos, proporcionando efeito negativo e ausência de efeito na produtividade, com as doses de 3,5 e 2,0 mL kg^{-1} de sementes de inoculante, respectivamente. A adubação nitrogenada tardia na fase reprodutiva da cultura da soja demonstrou ser uma prática desnecessária e totalmente dispensável em ambiente de alto rendimento de grãos sob plantio direto.

REFERÊNCIAS

AITA, C.; GIACOMINI, S.J.Matéria orgânica do solo, nitrogênio e enxofre nos diversos sistemas de exploração agrícola. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. (Eds.). **Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: IPNI, 2007. p. 1-41.

AMADO, T.J.C, VILLALBA, E.O.H., BORTOLOTTO, R.P.; SANTI, A.L.; LEÓN, E.A.B., MENEFEE, D.; KUNZ, J. Efficiency of nitrogen fertilizer applied at corn sowing in contrasting growing seasons in Paraguay. **Revista Brasileira de Ciência do Solo.** V. 37, p. 1641-1650, 2013.

ANDA (Associação nacional para difusão de adubos). Disponível em: <http://www.anda.org.br> Acesso em: 25/05/2019.

BASHAN, Y.; de-BASHAN, L.E. How the plant growth-promoting bacterium Azospirillum promotes plant growth—a critical assessment. **Advances in Agronomy,** v.108, p.77–136, 2010.

BATISTA, K.; MONTEIRO, F.A. Sistema radicular do capimMarandu, considerando as combinações de doses de nitrogênio e de enxofre. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, n.5, p.821-828, 2006.

BENINTENDE, S.; UHRICH, W.; HERRERA, M..; GANGGE, F.; STERREN, M.; BENINTENDE, M. Comparación entre coinoculación com *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple con *Bradyrhizobium japonicum* en la nodulación, crecimiento y acumulación de N en el cultivo de soja. **Agriscientia**. v. 27, n.2, p.71-77, 2010.

BOSCHINI, A. P. M.; SILVA, C. L.; OLIVEIRA, C. A. S.; OLIVEIRA JÚNIOR, M. P.; MIRANDA, M. Z.; FAGIOLI, M. Aspectos quantitativos e qualitativos do grão de trigo influenciados por nitrogênio e laminas de água. **Revista Brasileira de Engenharia Agricola e Ambiental**, 2011.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C.M. Estádios fenológicos do trigo para a adubação nitrogenada em cobertura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 317-323, 2001.

BRIEDIS, C.; SÁ, J.C.M., CAIRES, E.F.; NAVARRO, J.F.; INAGAKI, T.M.; BOER, A.; QUADROS NETO, C.; FERREIRA, A.O.; CANALLI, L.B.; SANTOS, J.B. Soil organic matter pools and carbon-protection mechanisms in aggregate classes influenced by surfasse liming in a no-till system. **Geoderma,** v.170, p.80–88, 2012.

CAIRES, E. F.; HALISKI, A.; BINI, A. R.; SCHARR, D. A. Surface liming and nitrogen fertilization for crop grain production under no-till management in Brazil. **European Journal of Agronomy**, v.66, p.41-53, 2015.

CAIRES, E. F.; FONSECA, A.F.; MENDES, J.; CHUEIRI, W.A.; MADRUGA, E.F. Produção de milho, trigo e soja em função das alterações das características químicas do solo

pela aplicação de calcário e gesso na superfície, em sistema de plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, n.2, p.315-327, 1999.

CAIRES, E.F. Manejo da acidez do solo. In: PROCHNOW L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. **Boas Práticas para uso Eficiente de Fertilizantes.** Piracicaba, v. 1, International Plant Nutrition Institute, p.281-347, 2010.

CAIRES, E.F.; FELDHAUS, I.C.; BARTH, G.; GARBUIO, F.J. Lime and gypsum application on the wheat crop. **Scientia Agricola,** v.59, n.2, p.357-364, 2002.

CAIRES, E.F.; FONSECA, A.F.; FELDHAUS, I.C. & BLUM, J. Crescimento radicular e nutrição da soja cultivada no sistema plantio direto em resposta ao calcário e gesso na superfície. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.1029-1040, 2001.

CAIRES, E.F.; GUIMARÃES, A.M. A novel phosphogypsum application recommendation method under continuous no-till management in Brazil. Agronomy Journal, v. 110, p.1987-1995, 2018.

CAIRES, E.F.; KUSMAN, M.T.; BARTH, G.; GARBUIO, F.J.; PADILHA, J.M. Alterações químicas do solo e resposta do milho à calagem e aplicação de gesso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, n.1, p.125-136, 2004.

CAIRES, E.F.; MASCHIETTO, E.H.G.; GARBUIO, F.J.; CHURKA, S.; JORIS, H.A.W. Surface application of gypsum in low acidic Oxisol under no-till cropping system. **Scientia Agrícola**, v.68, p.209-216, 2011b.

CAIRES, E.F.; BLUM, J. ; BARTH, G. ; GARBUIO, F.J. ; KUSMAN, M.T. Alterações químicas do solo e resposta da soja ao calcário e gesso aplicados na implantação do sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n.2, p. 275-286, 2003.

CAIRES, E.F.; CORRÊA, J.C.L.; CHURKA, S.; BARTH, G.; GARBUIO, F.J. Surface application of lime ameliorates subsoil acidity and improves root growth and yield of wheat in an acid soil under no-till system. **Scientia Agrícola**, v. 63, p. 502-509, 2006.

CAIRES, E.F.; JORIS, H.A.W. ; CHURKA, S. Long-term effects of lime and gypsum additions on no-till corn and soybean yield and soil chemical properties in southern Brazil. **Soil Use and Management**, v. 27, p. 45-53, 2011a.

CAIRES, E.F.; JORIS, H.A.W.; CHURKA, S. Long-term effects of lime and gypsum additions on no-till corn and soybean yield and soil chemical properties in southern Brazil. **Soil Use and Management**, v.27, p.45-53, 2011.

CAIRES, E.F; MILLA, R. Adubação nitrogenada em cobertura para o cultivo de milho com alto potencial produtivo em sistema de plantio direto de longa duração. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p.87-95, 2016.

CAIRES, E.F; ZARDO FILHO, R.; BARTH, G.; JORIS, H.A.W. Optimizing nitrogen use efficiency for no-till corn production by improving root growth and capturing NO_3^-N in subsoil. **Pedosphere**, v.26, p.474-485, 2016.

CAMPOS A.X. Fetilização com sulfato de amônio na cultura do milho em um solo do cerrado de Brasília sob pastagens de Brachiaria decumbens. 2004, 131p. Tese (Doutorado em Agronomia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

CANTARELLA, H.; MONTEZANO, Z. F. Nitrogênio e enxofre. In: PROCHNOW L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. **Boas Práticas para uso Eficiente de Fertilizantes**. Piracicaba, v. 2, International Plant Nutrition Institute, p.5-46, 2010.

CANTARELLA, H.; PROCHNOW, L. I. Determinação de sulfato em solos. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, E.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, p. 225-230, 2001.

CASSÁN, F.; DÍAZ-ZORITA, M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 103, p. 117-130, 2016.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling grwth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) **European Journal of Soil Biology**, v.45, p. 28-35, 2009.

CAVALLET, L. E.; PESSOA, A. C. dos S.; HELMICH, J. J.; HELMICH, P. R.; OST, C. F. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. Revista **Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** V. 4, p. 129-132, 2000.

CHAPMAN, S.C.; BARRETO, H.J. (1997) Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. **Agronomy Journal**, v.89, p.557-562, 1997.

CHURKA BLUM, S.; GARBUIO, F.J.; JORIS, H.A.W; Caires, E.F. Assessing available soil sulphur from phosphogypsum applications in a no-till cropping system. **Experimental Agriculture**, v. 50, p. 516-532, 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v.10 - Safra 2018/19, n.10 - Décimo Levantamento, Brasília, p. 1-113, jul. 2019.

CONCEIÇÃO, F. T.; SARDINHA, D. S.; NAVARRO, G. R. B. Composição química das águas pluviais e deposição atmosférica anual na bacia do alto Sorocaba (SP). **Química Nova**. v. 34, n. 4, p. 610-616, 2011.

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, n.8, p.1038-1047, 2012.

CREGAN, P.B., BERKUM, P. Genetics of nitrogen metabolism and physiological/biochemical selection for increased grain crop productivity. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v.67, p.97-111, 1984.

CRUSCIOL, C. A. C.; GARCIA, R. A.; CASTRO, G. S. A.; e ROSOLEM, C. A. Nitrate role in basic cation leaching under no-till. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v.35, n.6, p.1975-1984, 2011.

DARTORA, J. GUIMARÃES, V.F. MARINI, D. SANDER,G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** v.17, n.10, p.1023–1029, 2013.

DÍAZ-ZORITA, M.D., CANIGIA, M.V.F. Field performance of a liquid formulation of Azospirillum brasilense on dryland wheat productivity. **European Journal of Soil Biology,** v.30 n° 9, p.1–10, 2008.

DÍAZ-ZORITA, M., MICUCCI, F.G., FERNANDEZ-CANIGIA, M.V. Field performance of a seed treatment with *Azospirillum brasilense* on corn productivity. In:Pérez, J.C., Soler Arango, J., Posada Uribe, L.F. (Eds.), **PGPR. 9th International and 1st Latinamerican PGPR Workshop. "Returning to Our Roots"**. Quirama, Medellín (Colombia), June 3rd-8th 2012.

DIBB, D.W.; WELCH, L.F. Corn growth as affected by ammonium vs.nitrate absorbed form soil. **Agronomy Journal**. v.68, p.89-94, 1976.

DIDONET, A.D.; LIMA, O.S.; CANDATEN, A.A.; RODRIGUES, O. Realocacão de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido à inoculação de Azospirillum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.401–411, 2000.

DOBBELAERE S, CROONENBORGHS A, THYS A, PTACEK D, OKON Y. VANDERLEYDEN J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, v.36, p.284-297, 2002.

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

DOBERMANN, A. Nitrogen Use Efficiency – measurement and management. In: INTERNATION WORKSHOP ON FERTILIZER BEST MANAGEMENT PRACTICES, 2007, Brussels. **Proceedings**… Paris: International Fertilizer Insdustry Association, 2007.

DOBERMANN, A. Nitrogen Use Efficiency – State of the Art 1. IFA International Workshop on Enhanced-Efficiency Fertilizers, Frankfurt, Germany p.18, 2005.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA . Centro Nacional de Pesquisa de Solo. **Manual de métodos de análises de solo**. 2 ed., Rio de Janeiro, 1997. 212p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Soluções tecnológicas. **Soja –BRS 284**. Disponível em: < https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/389/soja---brs-284>. Acesso em 28/06/2019.

ERNANI, P. R.; SANGOI, L.; LECH, V. A.; RAMPAZZO, C. A forma de aplicação da uréia e dos resíduos vegetais afeta a disponibilidade de nitrogênio. **Ciência Rural**. v.35, n.2, p.360-365, 2005.

ESPINDULA, M. C.; ROCHA, V. S.; SOUZA, M. A.; GROSSI, J. A. S.; SOUZA, L. T. Doses e formas de aplicação de nitrogênio no desenvolvimento e produção da cultura do trigo. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, p.1404-1411, 2010.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V.C. Enhancing nitrogen use efficiency in crop efficiency. **Advances in Agronomy,** v.88, p.1-89, 2005.

FANCELLI, A. L.; TSUMANUMA, G. M. Nitrogênio e enxofre nas culturas de milho e feijão. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. e; VITTI, G. C. (Ed.). **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira.** Piracicaba: IPNI, 2007. p. 445-486.

FANCELLI, A.L. Milho. In: PROCHNOW L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. **Boas Práticas para uso Eficiente de Fertilizantes.** Piracicaba, v. 3, International Plant Nutrition Institute, p.39-93, 2010.

FARINELLI, R. & BORGES, L. Produtividade e eficiência agronômica do milho em função da adubação nitrogenada e manejos do solo. **Revista Brasileira do Milho e Sorgo.** v.9, p.135-146, 2010.

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DE PLANTIO DIRETO E IRRIGAÇÃO - FEBRAPDP. Disponível em: <http://www.febrapdp.org.br>. Acesso em 10/05/2019.

FELLER, C. Lá matiére organique dans le sols tropicaux à argiles 1:1. Recherche de compartiments organiques fonctionnels. Une approche granulométrique. These Doct. Es Science, Univ. Strasbourg (ULP), 1994. 393p.

FERNANDES, F.C.S.; BUZETTI, S.; ARF, O. & ANDRADE, J.A.C. Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira do Milho e Sorgo**. v.4 p.195-204, 2005.

FERNANDES, F.C.S.; LIBARDI, P.L.; SILVA, M.M. Efeito da adubação nitrogenada nas propriedades químicas de um Latossolo, cultivado com milho em sucessão à aveia-preta, na implantação do sistema plantio direto. **Acta Scientiarum**, v.29, p.639-647, 2007.

FERNANDES, L. A.; VASCONCELLOS, C. A.; FURTINI NETO, A. E.; ROSCOE, R.; GUEDES, G. A. de A. Preparo do solo e adubação nitrogenada na produção de grãos e matéria seca e acúmulo de nutrientes pelo milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.** v. 34, n. 9, p. 1691-1698, 1999.

FERREIRA, D.F. **SISVAR - Sistema de análise de variância**. Versão 5.3. Lavras-MG: UFLA, 2006.

FIXEN, P.E. The four rights within a global fertilizer Best management practices framework . In: PROCHNOW L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. **Boas Práticas para uso Eficiente de Fertilizantes.** Piracicaba, v. 1, International Plant Nutrition Institute, p.1-22, 2010.

FREITAS, J.G. et al. Produtividade e resposta de genótipos de trigo ao nitrogênio. **Bragantia**, v. 53, n. 2, p. 281-290, 1994.

FREITAS, J.G.; CAMARGO, C.E.O.; PEREIRA FILHO, A.W.P., Eficiência e resposta de genótipos de trigo ao nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas,v.19, p.229-234, 1995.

FULCHIERI, M.; FRIONI L. *Azospirillum* inoculation on maize (*zea mays*): effect on yield in a field experiment in Central Argentina. **Soil Biology & Biochemistry.** v.26, n°.7, p.921-923, 1994.

GEORGE, T., SINGLETON P.W.; BOHLOOL. B.B. 1988. Yield, soil nitrogen uptake and nitrogen fixation by soybean from four maturity groups grown at three elevations. **Agronony Journal**, v.80 p.563-567, 1988.

GOMES, R.F.; SILVA, A.G.; ASSIS, R.L.; PIRES, F.R. Efeito de doses e da época de aplicação de nitrogênio nos caracteres agronômicos da cultura do milho sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, V.31, p.931-938, 2007.

GROPPA, M.D.; ZAWOZNIK, M.S.; TOMARO, M.L. Effect of co-inoculation with *Bradyrhizobium japomicum* and *Azospirillum brasilense* on soybean plants. **European Journal of Soil Biology** v.. 34, n.2, p.75-80, 1998.

GYÓRI, Z.N. sulphur content of winter wheat grain in long term field experiments. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**. V.36, p.373-382, 2005.

HARPER, J.E. Soil and symbiotic requirements for optimum soybean production. **Crop Science,** v.14, p.255 – 260, 1974.

HEINEMANN, A. B.; STONE, L. F.; DIDONET, A. D.; TRINDADE M. G.; SOARES. B. B.; MOREIRA J. A. A.; CÁNOVAS A. D. Eficiência de uso da radiação solar na produtividade do trigo decorrente da adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, p.352-356, 2006.

HOFMAN, G.; VAN CLEEMPUT, O. **Soil and Plant Nitrogen**. Paris, International Fertilizer Industry Association, p 30. 2004.

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

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; CAMPO, R.J.; GRAHAM, P.H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: WERNER, D.; NEWTON, W.E. (Ed.). Nitrogen fixation in agriculture: forestry ecology and environment. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2005. p.25-42.

HUNGRIA, M.; FRANCINI, J.C.; CRISPINO, C.C.; MORAES, J.Z.; SIBALDELLI, R.N.R.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: Contributions of biological N2 fixation and N fertilizer to grain yield. Canadian Journal of Plant Science, v. 86, n.4, p.927-939, 2006.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. Alternative methods and time for soybean inoculation to overcome adverse conditions at sowing. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 23, p. 2329-2338, 2015.

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

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; CAMPOS, R.J. A inoculação da soja. Londrina: Embrapa Soja, 1997. 28p. (Circular Técnica 17).

IFA (International Fertilizer Industry Association). IFA Strategic Forum, Marrakech, Marocco, Disponível em: <http://www.fertilizer.org/imis20/images/Library_Downloads/2014> Acesso em: 06/05/2015.

IPNI 2019 (International plant nutrition institute). Disponivel em: < http://brasil.ipni.net/article/BRS-3132#evolucao> Acesso em: 11/06/2019.

IPNI 2008 (International plant nutrition institute). Disponivel em: <http://brasil.ipni.net/article/BRS-3133#estados> Acesso em: 11/06/2019.

ISHIZUKA, J. Trends in biological nitrogen-fixation research and application. **Plant and soil**, v. 141, p. 197-209, 1992.

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

KAPULNIK, Y.; OKON, Y.; HENIS, Y. Changes in root morphology of wheat caused by *Azospirillum* inoculation. **Canadian Journal of Microbiology**, v.31, p.881-887, 1985.

KOUTROUBRAS, S.D.; PAPAKOSTA, D.K.; GAGIANAS, A.A. The importance of early dry matter and nitrogen accumulation in soybean yield. **European Journal of Agronomy**, v.9, p.1-10, 1998.

LA MENZA, N.C.; MONZON, J.P.; SPECHT, J.E.; GRASSINI, P. Is soybean yield limited by nitrogen supply? **Field Crops Research**, v.213, p.204–212, 2017.

LADHA, J.K; PATHAK, H.; KRUPNIK, Z. J.; SIX, J.; KESSEL, C.V. Efficiency of fertilizer nitrogen in cereal production: retrospect and prospects. **Advances in Agronomy**, v.87, p.1-71, 2005.

LAMB, J.; REHM, G.; SEVERSON, R.; CYMBALUK, T. Impact of inoculation and use of fertilizer nitrogen on soybean production where growing seasons are short. **Journal of Production Agriculture**. v.3, p.241–245, 1990.

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

LANGE, A.; CARVALHO, J.L.N.; DAMIN, V.; CRUZ, J.C.; MARQUES, J.J. Alterações em atributos do solo decorrentes da aplicação de nitrogênio e palha em sistema semeadura direta na cultura do milho. **Ciência Rural**, v.36, p.460-467, 2006.

LAWN, R.J.; BRUN W.A. Symbiotic nitrogen fixation in soybeans. I. Effect of photosynthetic source-sink manipulations. **Crop Science**, v.14, p.ll-16, 1974.

LOPES, A.S.; BASTOS, A.R.R.; DAHER, E.Uso eficiente de fertilizantes nitrogenados e sulfatados na agricultura brasileira: Uma visão do futuro. *In:* YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. (Eds.). **Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira.** Piracicaba: IPNI, 2007. p. 161-187.

LOPES, E.S. Fixação biológica do nitrogênio no sistema solo-planta. *In:* YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. (Eds.). **Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira.** Piracicaba: IPNI, 2007. p. 43-72.

LOS GALETTO, S. **Eficiência da adubação fosfatada influenciada pela aplicação de gesso agrícola em sistema plantio direto**. 2016. 203. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Ponta Grossa.

LOS GALETTO, S.; BINI, A.R.; HALISKI, A.; SCHARR D.A.; BORSZOWSKEI, P.R.; CAIRES, E.F. Nitrogen fertilization in top dressing for wheat crop in succession to soybean under a no-till system. **Bragantia**, v.76, n. 2, p.282-291, 2017.

MALAVOLTA, E. **Elementos da nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ceres, 1980. 251 p.

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

MALAVOLTA, E. O gesso agrícola no ambiente e na nutrição da planta - perguntas e respostas. In: II SEMINÁRIO SOBRE O USO DO GESSO NA AGRICULTURA. **Anais...** Uberaba, p.41-66, 1992.

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

MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F. Fundamentos do Nitrogênio e do Enxofre na Nutrição Mineral de Plantas Cultivadas. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. (Eds.). **Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: IPNI, 2007. p. 189-249.

MALAVOLTA, E. Nutrição e adubação do feijoeiro. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. (Ed). **Tecnologia da produção da cultura do feijão irrigado.** 2ª Ed. Piracicaba: ESALQ, 1997. P.22-51.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba, POTAFOS, 1997. 319p.

MARINI, D.; GUIMARÃES, V.F.; DARTORA, J.; LANA, M.C.; PINTO JÚNIOR, A.S. Growth and yield of corn hybrids in response to association with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization. **Revista Ceres**, v. 62, n.1, p. 117-123, 2015.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3.ed London: Elsevier, 2012. 643p.

MASTRODOMENICO, A.T.; PURCELL, L.C. Soybean nitrogen fixation and nitrogen remobilization during reproductive development. Crop Science v.52, p.1281–1289, 2012.

MEHNAZ, S.; KOWALIK, T.; REYNOLDS, B.; LAZAROVITS, G. Growth promoting effects of corn (*Zea mays*) bacterial isolates under greenhouse and field conditions. **Soil Biology & Biochemistry**, v.42, p.1848-1856, 2010.

MELERO, M. M.; GITTI, D. C.; ARF, O.; RODRIGUES, R. A. F. Coberturas vegetais e doses de nitrogênio em trigo sob sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.43, p.343-353, 2013.

MELGAR, R.; DAHER, E. Fertilizer best management practices in South American's agricultural systems. In: International fertilizer industry association. **Fertilizer best management practices.** Paris, 2007. p.153-162.

MELLO, F.A.F.; ARZOLLA, S.; KIEHL, J.C. Efeito de doses e modos de aplicação de uréia na produção de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.12, p. 269-274, 1988.

MELLO, N. Inoculação de *Azospirillum brasilense* nas culturas de milho e trigo. Passo Fundo, 2012. 98p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo.

MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F.B.; HUNGRIA, M.; SOUZA, D.M.G.; CAMPO, R.J. Adubação nitrogenada suplementar tardia em soja cultivada em latossolos do cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1053-1060, 2008.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. **Principles of plant nutrition**. 5.ed. Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers, 2001. 849p.

MOURTZINIS S.; KAUR G.; ORLOWSKI J.M.; SHAPIRO C.A.; LEE C.D.; WORTMANN C.; HOLSHOUSER D.; NAFZIGER E.D.; KANDEL H, NIEKAMP J.; ROSS W.J.; LOFTON J.; VONK J.; ROOZEBOOM K.L.; THELEN K.D.; LINDSEY L.E.; STATON M.; NAEVE S.L.; CASTEEL S.N.; WIEBOLD W.J.; CONLEY S.P. Soybean response to nitrogen application across the United States: A synthesis-analysis. **Field Crops Research**. V.215, p.74–82, 2018.

MUZILLI, O. **Princípios e perspectivas de expansão**. In: Plantio direto no Estado do Paraná. Londrina, Instituto Agronômico do Paraná, p.11-16, 1981 (Circular, 23).

NAIMAN, A.; LATRÓNICO, A.; GARCÍA DE SALAMONE, I. Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: impact on the production and rhizosphere microflora. **European Journal of Soil Biology**, v.45, p.44-51, 2009.

NAKAMURA, K.; HARTER, T.; HIRONO, Y.; HORONO, H.; MITSUNO, T. Assessment of root zone nitrogen leaching as affected by irrigation and nutrient management practices. **Soil Science Society of America** v.3, p.1353-1366, 2004.

NASERI, R.; MOGHADAM, A.; DARABI, F.; HATAMI, A.; TAHMASEBEI, G. The effect of deficit irrigation and *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* on grain yield, yield components of maize (S.C. 704) as a second cropping in western Iran. Bulletin of Environment, **Pharmacology and Life Sciences.** V.2, p.104-112, 2013.

NOVAKOWISKI, J.H.; SANDINI, I.E.; MARGARETE, K.F.; MORAES, A.; NOVAKOWISKI, J.H.; CHENG, N.C. Residual effect of nitrogen fertilization and *Azospirillum brasilense* inoculation in the maize culture. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 1687-1698, 2011.

OGÜT, M.; AKDAG, C.; DUZDEMIR, O. & SAKIN, A.M. Single and double inoculation with Azospirillum/Tricoderma: The effects on dry bean and wheat. **Biology and Fertility of Soils**, v. 41, p. 262- 272, 2005.

OKAN, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C.A. Agronomic applications of Azospirillum: na evoluation of 20 years worldwide Field inoculation. **Soil Biology and Boochemistry**, v.26, p. 1591-1601, 1994.

OSÓRIO FILHO, B. D.; RHEINHEIMER, D. S.; SILVA, L. S.; KAMINSKI, J.; DIAS, G. F. Soil sulphur atmospheric depositions by pluvial precipitations and crops responses to sulfated fertilization in no-tillage system. **Ciência Rural**, v.37, p.712-719, 2007.

PAPACOSTA, D.K.; VERESOGLOU, D.S. Responses of soybean cultivars to inoculation and nitrogen application in Greece in fields free of *Bradyrhizobium japonicum*. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.163, p.275-283, 1989.

PAULETTI, V. Adubação nitrogenada no sistema plantio direto. **Simpósio sobre fertilidade do solo e nutrição de plantas no sistema plantio direto**. 1, Ponta Grossa, 2000. Associação dos Engenheiros Agrônomos dos Campos Gerais / Universidade estadual de Ponta Grossa, 2000. P.122-136.

PAULETTI, V. **Nutrientes: teores e interpretações**. 2ª ed. Castro: Fundação ABC para Assistência e Divulgação Técnica Agropecuária, 2004.

PAULETTI, V.; MOTTA, A.C.V. Manual de adubação e calagem para o estado do Paraná. Curitiba: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Núcleo Estadual Paraná**. 482 p., 2017.

PAVAN, M. A.; BLOCH, M. F.; ZEMPULSKY, H. C.; MIYAZAWA, M.; ZOCOLER, D. C. **Manual de análise química do solo e controle de qualidade**. Londrina, Instituto Agronômico do Paraná, 38p. (Circular, 76) 1992.

PAVINATO, P. S.; CERETTA, C. A.; GIROTTO, E.; LOPES MOREIRA, I. C. Nitrogênio e potássio em milho irrigado: analise técnica e econômica da fertilização. **Ciencia Rural,** v.38, p.358-370, 2008.

PEDROSA, F.O; OLIVEIRA, A.L.M; GUIMARÃES V.F; ETTO, R.M., SOUZA, E.M; FURMAM, F.G.; GONÇALVES D.R.P.; SANTOS, O.J.A.P.; GONÇALVES L.S.A.; BATTISTUS, A.G.; GALVÃO, C.W (2019). The ammonium excreting Azospirillum brasilense strain HM053: a new alternative inoculant for maize. **Plant Soil**. https://doi.org/10.1007/s11104-019-04124-8.

PEREG, L.; BASHAN, L.E.; BASHAN, Y. Assessment of affinity and specificity of Azospirillum for plants. **Plant Soil**, v.399, p.389-414, 2016.

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

PICCININ, G.G.; BRACCINI, A.L.; DAN, L.G.M.; SCAPIM, C.A.; RICCI, T.T.; BAZO, G.L. Efficiency of seed inoculation with Azospirillum brasilense on agronomic characteristics and yield of wheat. **Industrial Crops and Products.** v. 43, p.393-397, 2012.

PITTA, C. S. R.; PELISSARI, A.; SILVEIRA, A. L. F; ADAMI, P. F; SARTOR, L. R; ASSMANN, T. S.; MIGLIORINI, F. Decomposition and nitrogen release in areas with and without grazing and its influence on corn. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 34, n. 2, p. 905-920, 2013.

PRANDO, A. M.; ZUCARELI, C.; FRONZA, V.; BASSOI, M. C.; OLIVEIRA, F. A. Formas de uréia e doses de nitrogênio em cobertura no desempenho agronômico de genótipos de trigo. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, p.621-632, 2012.

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

QUAGGIO, J.A. **A acidez e calagem em solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 111p., 2000.

RAIJ, B. van. **Gesso na agricultura**. Campinas, SP: Instituto Agronômico, 2008. 233p.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. Recomendações de adubação e caagem para o estado de São Pauo. 2. Ed. Campina, SP: Instituto Agronômico e Fundação IAC, 1996. 285p. (Boletim Técnico, 100).

RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: CERES, POTAFOS, 343p., 1991.

RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 420p., 2011.

RAMBO, L.; SILVA, P.R.F.; BAYER, C.; ARGENTA,G.; STRIEDER,M.L.; SILVA, A.A. Teor de nitrato como indicador complementar da disponibilidade de nitrogênio no solo para o milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.31, p. 731-738, 2007.

RAMPIM, L.; LANA M.C.; FRANDOLOSO J.F.; FONTANIVA, S. Atributos quimicos de solo e resposta do trigo e da soja ao gesso em sistema semeadura direta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** v.35, p.1687–1698, 2011.

RAMPIM, L.; LANA, M.C.; FRANDOLOSO, J.F. Fósforo e enxofre disponível, alumínio trocável e fósforo remanescente em Latossolo vermelho submetido ao gesso cultivado com trigo e soja. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.34, n.4, p.1623-1638, 2013.

RAO, A.C.S.; SMITH, J.L.; PARR, J.F.; PAPENDICK, R.I. Considerations in estimating nitrogen recovery efficiency by the difference and isotopic dilution methods. **Fertilizer Research**. v.33, p.209-217, 1992.

RAUN, W.R. & JOHNSON, G.V. Improving N use efficiency for cereal production. **Agronomy Journal,** v. 91, p. 357-363, 1999.

RAUN, W.R.; SOLIE, J.B.; JOHNSON, G.V., STONE, M.L.; MULLEN, R.W.; FREEMAN, K.W.; THOMASON, W,E.; LUKINA, E.V. Improving nitrogen use efficiency in cereal grain production with opitical sensind varieable rate application. **Agronomy Journal,** v.94, p.815-820, 2002.

REIS JUNIOR, F. B. dos; MACHADO, C. T. de T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** v. 32, n. 3, p. 1139- 1146, 2008.

REPKE, R.A. **Eficiência da *Azospirillum Brasilense* na fixação de nitrogênio em milho. Botucatu**, 2013. 68p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

RODRIGUEZ H, GONZALEZ T, GOIRE I, BASHAN Y. Gluconicacid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium Azospirillum spp. **Naturwissenschaften.** V.91, p.552–555, 2007.

ROESCH, L. F. W.; OLIVARES, F. L.; PASSAGLIA, L. P. M.; SELBACH, P. A.; SÁ, E. L. S de; CAMARGO, F. A. O. Characterization of diazotrophic bacteria associated with maize: effect of plant genotype, ontogeny and nitrogen-supply. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v. 22, n. 9, p. 967-974, 2006.

RYLE, G. J. A.; POWELL, C. E.; GORDON, A. J. The respiratory costs of nitrogen fixation in soyabean, cowpea, and white clover. II. Comparisons of the cost of nitrogen fixation and the utilization of combined nitrogen. **Journal of Experimental Botany**, v.30, p.145-153, 1979.

SÁ, J. C. M.; CARDOSO, E. G.; SANTOS, J. B.; OLIVEIRA A. F.; FERREIRA, C. F.; MASSINHAM, A.; SIUTA JUNIOR, D.; SÁ, M. F. M. Manejo de fertilizantes nitrogenados em sistemas de produção envolvendo os cultivos de soja/trigo e soja/milho no sistema plantio direto. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. (Eds.). **Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: IPNI, 2007. p. 567-649.

SÁ, J.C.M. Manejo da fertilidade do solo no sistema plantio direto. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G., eds. **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas.** Viçosa: SBCS, Lavras: UFLA/DCS, p.267-319, 1999.

SÁ, J.C.M.; CERRI, C.C.; DICK, W.A.; LAL, R.; VENSKE-FILHO, S.P.; PICCOLO, M.C.; FEIGL, B.E. Organic matter dynamics and carbon sequestration rates for a tillage chronosequence in a Brazilian Oxisol. **Soil Science Society of America Journal**, v.65, p.1486-1499, 2001.

SALVAGIOTTI, F.; CASSMAN, K.G.; SPECHT, J.E.; WALTERS, D.T.; WEISS, A.; DOBERMANN, A. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: a review. **Field Crops Research**. 108, p.1–13, 2008.

SALVAGIOTTI, F.; CASTELLARÍN, J.M.; MIRALLES, D.J.; PEDROL, H.M. Sulfur fertilization improves nitrogen use efficiency in wheat by increasing nitrogen uptake. **Field Crops Research**, v.113, p.170-177, 2009.

SALVAGIOTTI, F.; MIRALLES, D.J. Radiation interception, biomass production and grain yield as affected by the interaction of nitrogen and sulfur fertilization in wheat. **European Journal of Agronomy**. v.28, p.282-290, 2008.

SANTOS, H.G.; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C.; OLIVEIRA, V.A.; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIDA, J.A.; CUNHA, T.J.F.; OLIVEIRA, J.B. **Sistema brasileiro de classificação de solos.** 3.ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 2013. 353p.

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

SCHIMIDT, J.P.; DEJOIA, A.J.; FERGUSON, R.B.; TAYLOR, R.K.; YOUNG, R.K.; HAVLIN, A.L. Corn Yield Response to Nitrogen at Multiple In-Field Locations. **Agronomy Journal** V.94, p. 798-806. 2002.

SCHLESSINGER, W .H. **Biogeochemistry**: An analysis of global change. London: Academic Press, 1997. v.1, 588p.

SIERRA, J.; MARBÁN, L. Nitrogen mineralization pattern of an oxisol of Guadeloupe, French West Indies. **Soil Science Society of American Journal**. V.64, p. 2002-2010, 2000.

SILVA, D.J.; VENEGAS, V.H.A.; RUIZ, H.A.; SANT'ANNA, R. Traslocation and redistribution of súlfur in corn and soybean plants. Pesquisa Agropecuária brasileira, v.38, p.715-721, 2003.

SILVA, E.C.; BUZETTI, S.; GUIMARÃES, G.L.; LAZARINI, E.; SÁ, M.E. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio na cultura do milho em plantio direto sobre latossolo vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, V. 29, p. 353-362, 2005.

SIQUEIRA NETO, M.; PICCOLO, M. C.; VENZKE FILHO, S. P.; FEIGL, B. J.; CERRI, C. C. Mineralização de desnitrificação do nitrogênio no solo sob sistema plantio direto. **Bragantia**. V.69, n.4, p. 923-936, 2010.

SMIL, V. Nitrogen in crop production: An account of global flows. **Global Biogeochem Cycles**, v.13, p. 647-662, 1999.

SORATTO, R.P.; SILVA, A.H.; CARDOSO, S.M.; MENDONÇA, C.G. Doses e fontes alternativas de nitrogênio no milho sob plantio direto em solo arenoso. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.62-70, 2011.

SOUSA, D. M. G. de; REIN, T. A.; GOEDERT, W. J.; LOBATO, E.; NUNES, R. S. Fósforo. In: PROCHNOW, L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. (Ed.). **Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes: nutrientes**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, v. 2, p. 67-132, 2010.

SOUSA, D.M.G.; MIRANDA, L.N.; OLIVEIRA, S.A. Acidez do solo e sua correção. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. **Fertilidade do solo**. SBCS. 1 ed. p.205-274, 2007.

SOUZA, E. F. C.; SORATTO, R. P. Efeito de fontes e doses de nitrogênio em cobertura, no milho safrinha, em plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 5, n. 3, p. 395-405, 2006.

SOUZA, W. J. O.; MELO, W. J. Tores de nitrogênio no solo e nas frações da matéria orgânica sob diferentes sistemas de produção de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. V. 24, p. 885-896, 2000.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Distribution of total and available sulfur in selected soils and soil profiles. **Agronomy Journal**, Madison, v. 64, p. 40-44, 1972.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal.** 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TBIO Disponível em: <http://biotrigo.com.br/cultivares/portfolio/tbio_sinuelo/21>. Acesso em 10/06/2019.

TEA, I.; GENTER, T.; VIOLLEAU, F.; AND KLEIBER, D. Changes in the glutathione thiol-disulfide status in wheat grain by foliar sulphur fertilization: consequences for the rheological properties of dough. **Journal of Cereal Science**, v.41, p.305-315, 2005.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; BENET, C. G. S. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em trigo irrigado em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.797-804, 2010.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; SÁ, M. E. Application times, sources and doses of nitrogen on wheat cultivars under no till in the Cerrado region. **Ciência Rural**, v.41, p.1375-1382, 2011.

TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; ALVAREZ, R. de C.F.; FREITAS, J.G. de; ARF, O.; SÁ, M.E. de. Resposta de cultivares de trigo irrigado por aspersão ao nitrogênio em cobertura na Região do Cerrado. **Acta Scientiarum.** Agronomy, v.29, p.421-425, 2007.

TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; BENETT, C.G.S. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em trigo irrigado em plantio direto. **Pesquisa agropecuária brasileira,** v.45, n.8, p.797-804, 2010.

THEOGO, E.Q.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; ANDREOTTI, M.; MEGDA, M.M.; BENETT, C.G.S. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio influenciando teores de clorofila e produtividade do trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** v.38, p.1826-1835, 2014.

TOMA, M.; SUMNER, M.E.; WEEKS, G.; SAIGUSA, M. Long-term effects of gypsum on crop yield and subsoil chemical properties. **Soil Science Society of America Journal**, v.63, p.891-895, 1999.

TRINDADE, M. G.; STONE, L. F.; HEINEMANN, A. B.; CÁNOVAS, A. D.; MOREIRA, J. A. A. Nitrogênio e água como fatores de produtividade do trigo no Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.10, p.24-29, 2006.

VILELA, R. G.; ARF, O.; GITTI, D. C.; KAPPES, C.; GOES, R. J.; DAL BEM, E. A. Manejos do Milheto e Doses de Nitrogênio na Cultura do Milho em Sistema Plantio Direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 11, n. 3, p. 234-242, 2012.

VITTI, G. C.; HEIRINCHS, R. Formas tradicionais e alternativas de obtenção e utilização do nitrogênio e do enxofre: Uma visão holística. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. e; VITTI, G. C. (Ed.). **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira.** Piracicaba: IPNI, 2007. p. 109-160.

VITTI, G. C.; HEIRINCHS, R. Formas tradicionais e alternativas de obtenção e utilização do nitrogênio e do enxofre: Uma visão holística. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. e; VITTI, G. C. (Ed.). **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira.** Piracicaba: IPNI, 2007. p. 109-160.

VITTI, G.C.; LUZ, P. H.de C.; MALAVOLTA, E.; DIAS, A. S.; SERRANO, C. G. de E. Uso do gesso em sistemas de produção agrícola. Piracicaba: GAPE, 2008, 104p.

VOLFSON, V.; FIBACH-PALDI, S.; PAULUCCI, N.S.; DARDANELLI, M.S.; MATAN, O.; BURDMAN, S.; OKON, Y. Phenotypic variation in *Azospirillum brasilense* Sp7 does not influence plant growth promotion effects. **Soil Biology & Biochemistry.** v.67, p.255-262, 2013.

WESLEY, T.L.; LAMOND, R.E.; MARTIN, V.L.; DUNCAN, S.R. Effects of late-season nitrogen fertilizer on irrigated soybean yield and composition. Journal of Production Agriculture, v.11, p.331-336, 1998.

WHIETHÖLTER, S. Nitrogênio no solo sob plantio direto. **Revista Plantio Direto**, p.38-42, 2000.

WOOD, C.W.; TORBERT, H.A.; WEAVER, D.B. Nitrogen fertilizer effects on soybean growth, yield, and seed composition. **Journal o Production Agriculture**, v.6, p.354-360, 1993.

XUE, Y.F.; ZHANG, W.; LIU, D.Y.; YUE, S.C.; CUI, Z.L.; CHEN, X.P.; ZOU, C.Q. Effects of nitrogen management on root morphology and zinc translocation from root to shoot of winter wheat in the field. **Field Crops Research**, v.161, p.38-45, 2014.

ZAGONEL, J.; FERNANDES, E. C. Doses e épocas de aplicação de redutor de crescimento Afetando cultivares de trigo em duas doses de nitrogênio. **Planta Daninha**, v.25, p.331- 339, 2007.

ZANDONÁ, R.R.; BEUTLER A.N.; BURG G.M.; BARRETO C.F.; SCHMIDT M.R. Gesso e calcário aumentam a produtividade e amenizam o efeito do déficit hídrico em milho e soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.45, p.128–137, 2015.

ZARDO FILHO, R. **Gesso agrícola e adubação nitrogenada na cultura do milho em sistema plantio direto. Ponta Grossa**, 2011. 138p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Ponta Grossa.

ZILLI, J.E.; MARSON, L.C.; CAMPO, R.J.; GIANLUPPI, V.; HUNGRIA, M.; SMIDERLE, O.J. **Avaliação da fixação biológica de nitrogênio na soja em áreas de primeiro cultivo no cerrado de Roraima**. Embrapa Roraima, 2006. 9p. (Embrapa Roraima. Comunicado Técnico, 20).

ZILLI, J.E.; MARSON, L.C.; MARSON, B.F.; GIANLUPPI, V.; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Soybean Inoculation by Spraying Bradyrhizobium over Plants. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v.43, p.541-544, 2008.