

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

ANGELO RAFAEL BINI

**ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense*
PARA A PRODUÇÃO DE MILHO E TRIGO EM SISTEMA PLANTIO DIRETO**

**PONTA GROSSA - PR
2015**

ANGELO RAFAEL BINI

**ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense*
PARA A PRODUÇÃO DE MILHO E TRIGO EM SISTEMA PLANTIO DIRETO**

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

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Fávero Caires.

**PONTA GROSSA - PR
2015**

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

Bini, Angelo Rafael

B612 Adubação nitrogenada e inoculação de
Azospirillum brasilense para a produção de
milho e trigo em sistema plantio direto/
Angelo Rafael Bini. Ponta Grossa, 2015.
70f.

Dissertação (Mestrado em Agronomia -
Área de Concentração: Agricultura),
Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Fávero
Caires.

1.Zea mays (L.),. 2.Triticum aestivum
(L.). 3.Fixação biológica de nitrogênio.
4.Eficiência. I.Caires, Eduardo Fávero.
II. Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Mestrado em Agronomia. III. T.

CDD: 631.84



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação: “Adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* para a produção de milho e trigo em sistema plantio direto”.

Nome: Angelo Rafael Bini

Orientador: Eduardo Fávero Caires

Aprovado pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Fávero Caires

Prof. Dr. Fernando José Garbuio

Pesquisador Dr. Helio Antonio Wood Joris

Data da Realização: 03 de agosto de 2015.

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) e a Fundação Araucária, pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao 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.

Aos funcionários da Universidade Estadual de Ponta Grossa, em especial à técnica do Laboratório de Fertilidade do Solo Dirce Aparecida de Oliveira, pela amizade, carinho e auxílio na realização das análises químicas de solo e planta.

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, Allison Fornari, Danilo A. Scharr, Shively Los Galetto, Hélio Antonio Wood Joris, Bruno F. de Oliveira Lourenço, Maicon E. Hildebrant, Rafael Pangratz Bedretchuk, Lucas Tzascos, Lucas Dalzoto, Kellen Serber, Felipe B. Moreira, Daniel Moreira, Alan Jean de Oliveira e Alessandro Gruzka Levandoski, pela grande 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 auxílio na implantação e condução da área experimental.

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

EPÍGRAFES

“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)

ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* PARA A PRODUÇÃO DE MILHO E TRIGO EM SISTEMA PLANTIO DIRETO

RESUMO

O fornecimento adequado de nitrogênio (N) é primordial para a obtenção de altos rendimentos de grãos de cereais. Entretanto, 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 nas culturas de milho e trigo pode contribuir para a sustentabilidade da produção agrícola. Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar (i) as alterações químicas do solo após a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e a aplicação de nitrogênio em cobertura e (ii) a nutrição das plantas, a produtividade de grãos, a extração de nutrientes e a eficiência de uso do N nas culturas de milho e trigo em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* 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 e com inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e, nas subparcelas, foram aplicadas quatro doses de N em cobertura, na forma de ureia, nas culturas de milho (0, 80, 160 e 240 kg ha⁻¹) e trigo (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹). O milho foi cultivado após aveia preta e o trigo foi cultivado após o milho. Amostras de solo coletadas nas camadas de 0-10, 10-20 e 20-40 cm, após a colheita do milho, não revelaram alterações nos valores de pH e nos teores de Al, Ca, Mg, K, P e S-SO₄²⁻ em função da inoculação com *Azospirillum*, tendo-se observado elevação nos teores de Mg na camada de 10-20 cm em resposta à adubação nitrogenada. A inoculação das sementes com *Azospirillum* não alterou os teores foliares de macronutrientes nas culturas de milho e trigo, e as doses de N em cobertura aumentaram os teores de N, P e S nas folhas do milho, e de N, K e Ca nas folhas de trigo. A produtividade do milho foi prejudicada pela inoculação com *Azospirillum* na ausência de adubação nitrogenada em cobertura e foi favorecida pelo *Azospirillum* quando a maior dose de N foi aplicada (240 kg ha⁻¹). Na cultura do trigo, a inoculação com *Azospirillum* aumentou a produtividade de grãos nos tratamentos sem N e com 40 e 80 kg N ha⁻¹, e deprimiu a produtividade de grãos quando a maior dose de N (120 kg ha⁻¹) foi aplicada em cobertura. A adubação nitrogenada em cobertura aumentou a produtividade de grãos de milho e trigo, tanto na ausência como na presença de inoculação com *Azospirillum*. A

inoculação das sementes com *Azospirillum* não alterou a extração de nutrientes pela cultura do milho e aumentou a extração de P e S pela cultura do trigo. A adubação nitrogenada em cobertura ocasionou incremento na extração de N, P, Ca, Mg e S pelo milho, e de K e S pelo trigo. A inoculação com *Azospirillum* favoreceu a extração de N pela cultura do trigo somente nas parcelas sem N e com aplicação da menor dose de N (40 kg ha^{-1}) em cobertura. A adubação nitrogenada em cobertura aumentou a extração de N pela cultura do trigo com ou sem *Azospirillum*. A inoculação das sementes com *Azospirillum* aumentou a eficiência agronômica (EA) da adubação nitrogenada em cobertura na cultura do milho e ocasionou incremento no Fator Parcial de Produtividade do N (FPP_N) na cultura do trigo quando a menor dose de N (40 kg ha^{-1}) foi aplicada em cobertura. A inoculação das sementes de milho e trigo com *Azospirillum brasilense*, associada com o ajuste da adubação nitrogenada em cobertura, mostrou-se viável para maximizar a produtividade de grãos das culturas em sistema plantio direto.

Palavras-Chave: *Zea mays* (L.), *Triticum aestivum* (L.), fixação biológica de nitrogênio, eficiência.

NITROGEN FERTILIZATION AND INOCULATION OF *Azospirillum brasilense* FOR CORN AND WHEAT PRODUCTION UNDER A NO-TILL SYSTEM

ABSTRACT

The adequate supply of nitrogen (N) is essential for obtaining high grain yields. However, use of high doses of N can reduce the efficiency of using the N and cause environmental contamination. The supply of N through biological fixation on corn and wheat may contribute to the sustainability of agricultural production. This study was carried out with the purpose of evaluate (i) the soil chemical attributes after seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and the application of nitrogen in top dressing and (ii) plant nutrition, grain yield, nutrient uptake and N use efficiency in corn and wheat on the basis of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization. The experiment was conducted in Ponta Grossa (PR) on a very loamy, kaolinitic, thermic Typic Hapludox (Oxisol) for 34 years under no-tillage. The experimental design used was a randomized block, in a split plot arrangement, with three replications. The plots were employed treatments with and without seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and the subplots were applied four doses of nitrogen in the form of urea in corn (0, 80, 160 and 240 kg ha⁻¹) and wheat (0, 40, 80 and 120 kg ha⁻¹). Corn was cultivated after black oat and wheat was grown after corn. Soil samples collected at 0-10, 10-20 and 20-40 cm depths, after corn harvest, revealed no changes in pH and Al, Ca, Mg, K, P and S-SO₄²⁻ depending on the inoculation with *Azospirillum*, and it was observed increase in Mg content in the 10-20 cm layer in response to nitrogen fertilization. Seeds inoculation with *Azospirillum* did not affect the leaf contents of macronutrients in maize and wheat, and doses of nitrogen in increased levels of N, P and S in corn leaves, and N, K and Ca in the leaves wheat. The corn production was hampered by inoculation with *Azospirillum* without N fertilization and was favored by *Azospirillum* when the highest dose of N was applied (240 kg ha⁻¹). In wheat crop, inoculation with *Azospirillum* increased grain yield in the treatments without N and 40 and 80 kg N ha⁻¹, and depressed grain yield when the highest dose of N (120 kg ha⁻¹) was applied cover. The nitrogen fertilization increased the productivity of maize and wheat grain, both in the absence and in the presence of inoculation with *Azospirillum*. Seeds inoculation with *Azospirillum* did not alter the nutrient uptake by corn and increased the extraction of P and S for the wheat crop. Nitrogen fertilization resulted in increased coverage in the extraction of N, P, Ca, Mg and S for corn, and K

and S for wheat. Inoculation with *Azospirillum* favored the extraction of N for wheat crop only in the plots without N and application of the lower dose of N (40 kg ha^{-1}) in coverage. The nitrogen fertilization increased the extraction of N for wheat crop with or without *Azospirillum*. Seeds inoculation with *Azospirillum* increased agronomic efficiency (EA) of nitrogen fertilization in corn and caused increase in the Partial Factor Productivity of N (FPP_N) in wheat crop when the lowest dose of N (40 kg ha^{-1}) was applied to cover. Inoculation of maize and wheat seeds with *Azospirillum brasilense*, associated with the adjustment of nitrogen fertilization, proved to be feasible capable to maximize grain yield crops in no-tillage system.

Keywords: *Zea mays* (L.), *Triticum aestivum* (L.), biological nitrogen fixation, efficiency.

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Precipitação pluvial mensal da região de Ponta Grossa (média de 45 anos) e precipitação pluvial mensal ocorrida durante a realização do experimento em 2012 e 2013 (IAPAR, 2014).....	31
FIGURA 2 - Produtividade de grãos de milho, considerando a inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> (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 5%. *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$	45
FIGURA 3 - Desenvolvimento da cultura do milho no momento da aplicação da aplicação do N em cobertura: (a) Sem <i>Azospirillum brasiliense</i> , (b) Com <i>Azospirillum brasilense</i> e as 21 dias após a adubação: (c) Sem <i>Azospirillum brasilense</i> , (d) Com <i>Azospirillum brasilense</i>	45
FIGURA 4 - Produtividade de grãos de trigo, considerando a inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> (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 5%. **: $P < 0,01$...	47

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 - Principais compostos nitrogenados e suas funções na planta. Adaptado de Malavolta e Moraes (2007).....	21
TABELA 2 - Eficiência na utilização do nitrogênio na cultura de milho e trigo. Adaptado de Ladha et al. (2010).....	25
TABELA 3 - Resultados de análises químicas e granulométricas do solo, em diferentes profundidades, antes da instalação do experimento	30
TABELA 4 - Atributos químicos do solo em diferentes profundidades, considerando a inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. Amostras de solo coletadas em junho de 2013	38
TABELA 5 - Concentrações de nutrientes nas folhas de milho, considerando a inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.....	41
TABELA 6 - Concentrações de nutrientes nas folhas de trigo, considerando a inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto	41
TABELA 7 - Extração de nutrientes pela cultura do milho, considerando a inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> e as doses de nitrogênio em cobertura no sistema plantio direto.	49
TABELA 8 - Extração de nutrientes pela cultura do trigo, considerando a inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> e as doses de nitrogênio em cobertura no sistema plantio direto.....	51
TABELA 9 - Desdobramento da interação entre os tratamentos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> × doses de N para a extração de nitrogênio pela cultura do trigo em sistema plantio direto.....	52
TABELA 10 - Eficiência agrônômica (EA), eficiência na recuperação aparente (ERA) e fator parcial de produtividade do N (FPP _N) para a cultura do milho, considerando a inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.....	53

TABELA 11 - Eficiência agronômica (EA), eficiência na recuperação aparente (ERA) e fator parcial de produtividade do N (FPP_N) para a cultura do trigo, considerando a inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.....	55
TABELA 12 - Desdobramento da interação entre os tratamentos de inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> × doses de N para o fator parcial de produtividade do N (FPP_N) do trigo em sistema plantio direto.	56

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1. SISTEMA PLANTIO DIRETO	18
2.2. NITROGÊNIO	19
2.2.1. NITROGÊNIO NO SOLO	19
2.2.2. NITROGÊNIO NA PLANTA	20
2.2.3. ADUBAÇÃO NITROGENADA	22
2.2.4. EFICIÊNCIA NA UTILIZAÇÃO DO NITROGÊNIO	23
2.3. FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO	25
2.4. CULTURAS DO MILHO E DO TRIGO	26
2.5. INOCULAÇÃO DE MILHO E TRIGO	28
3. MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1. LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO	30
3.2. CARACTERIZAÇÃO DO SOLO	30
3.3. MANEJO DO SOLO E SUCESSÃO DE CULTURAS	31
3.4. CARACTERIZAÇÃO CLIMÁTICA	31
3.5. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	31
3.6. INOCULAÇÃO DAS SEMENTES.....	32
3.7. ADUBAÇÃO NITROGENADA	32
3.8. CULTURA DO MILHO	32
3.9. CULTURA DO TRIGO	34
3.10. AMOSTRAGEM E ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO	36
3.11. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1. ATRIBUTOS QUÍMICOS DO SOLO	37

4.2.	TEORES DE NUTRIENTES NAS FOLHAS DE MILHO E TRIGO.....	40
4.3.	PRODUTIVIDADE DE GRÃOS DE MILHO E TRIGO	44
4.4.	EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES PELAS CULTURAS DE MILHO E TRIGO	48
4.5	EFICIENCIA NA UTILIZAÇÃO DO NITROGÊNIO PELAS CULTURAS.	53
5.	CONCLUSÕES	58
6.	REFERÊNCIAS	59

1. INTRODUÇÃO

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. O Brasil produziu na safra 2012/2013 aproximadamente 82 milhões de toneladas de milho, o que coloca o Brasil como terceiro maior produtor mundial de milho. Entretanto, a produtividade média brasileira de milho é de apenas 5,1 t ha⁻¹. Para o trigo em 2013, a produção brasileira foi de 4,38 milhões de toneladas e a produtividade média foi de 2,35 t ha⁻¹. A quantidade de trigo produzida é insuficiente para suprir a demanda interna do país (CONAB, 2014).

Um dos fatores que mais tem limitado e encarecido a produção das culturas de milho e trigo é o fornecimento inadequado de nitrogênio (N) para as culturas. 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.

Entre as formas de melhorar a eficiência na utilização do N aplicado está a inoculação das sementes com microrganismos capazes de realizar a fixação biológica do N₂, e o fornecimento de outros nutrientes de forma adequada. Para as culturas de milho e trigo, estudos têm demonstrado eficiência de bactérias do gênero *Azospirillum*, principalmente *A. brasilense*, para baixos tetos de produtividade de grãos. Entretanto, a eficiência da inoculação com estirpes dessa bactéria em áreas de alta produtividade de grãos ainda é pouco conhecida, necessitando de novos estudos.

Com a hipótese de que a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* aumenta a eficiência de uso do N nas culturas de milho e trigo em ambiente de alto potencial para o rendimento de grãos sob plantio direto, o presente trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar (i) as alterações químicas do solo após a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e a aplicação de nitrogênio em cobertura e (ii) a nutrição das plantas, a produtividade de grãos, a extração de nutrientes e a eficiência de uso do N nas culturas de milho e trigo em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e da adubação nitrogenada em cobertura.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1.SISTEMA PLANTIO DIRETO

A produção agrícola brasileira durante grande parte de sua história foi baseada no modelo europeu, o qual requeria intensa mobilização do solo para implantação das culturas. Entretanto, a partir da década de 1970, o sistema de produção começou a ser modificado no Estado do Paraná com a introdução do sistema plantio direto (SPD), buscando atenuar 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 32 milhões de hectares têm sido manejados em SPD na agricultura brasileira (FEBRAPDP, 2013), colocando o Brasil, juntamente com os Estados Unidos da América (EUA) e a Argentina, como líderes na adoção da agricultura de conservação.

Com a utilização do SPD por um número cada vez maior de produtores, 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 por meio de sua mineralização. 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 ($N-NH_4^+$). 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 colóides 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 ligar-se a esses cátions, formando complexos que podem ser lixiviados, acidificando o solo (van 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 [$2\text{NO}_3^- + 5\text{H}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$], 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 da desnitrificação ser um processo natural e fundamental para o ciclo do N, o mesmo acarreta em 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).

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 indolilacético	Hormônio (auxina)
Clorofila	Fotossíntese
Leghemoglobina	Fixação biológica de nitrogênio (FBN)
Coenzimas	Absorção iônica, vários processos
Nucleotídeos	RNA e DNA
Pigmentos	Várias funções

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 & 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 enxofre (S), cálcio (Ca), magnésio (Mg), zinco (Zn), cobre (Cu) e manganês (Mn), e antagônica com boro (B) (MALAVOLTA e MORAES, 2007).

A quantidade de N absorvido varia consideravelmente durante o ciclo da cultura. Geralmente, o incremento na quantidade de N absorvido ocorre de forma gradual durante a fase vegetativa, atinge o máximo durante o florescimento e cai durante a fase de enchimento dos grãos (CREGAN e BERKUM, 1984). Todavia, a diminuição da 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 110 milhões de toneladas e crescimento anual superior a 2% (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 3,94 milhões toneladas em 2013, o que corresponde a um aumento de 277 vezes (IPNI, 2013). Mesmo assim, o consumo de P₂O₅ (4,88 milhões de toneladas) e de K₂O (4,98 milhões de toneladas) ainda supera o consumo de N no Brasil (IPNI, 2013). No caso do Estado do Paraná, os volumes de N, P₂O₅ e K₂O utilizados são da ordem de 328, 476 e 455 mil toneladas, respectivamente (IPNI, 2008).

Analisando a relação de consumo N/P₂O₅/K₂O no Brasil, no ano de 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. 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 a 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. 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 Doberman (2005), Fageria et al. (2005), Hofman e Cleemput (2004) e Ladha et al. (2005), tem-se:

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

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});

$$\text{Eficiência na recuperação aparente (ERA, kg kg}^{-1}\text{)} = [(N_N - N_0)/N_A],$$

onde, N_N é a quantidade de N acumulada na planta (matéria seca total da parte aérea) com a adição de determinada dose de N (kg ha^{-1}), N_0 é a quantidade de N acumulada na planta (matéria seca total da parte aérea) sem adubação nitrogenada (kg ha^{-1}) e N_A é a quantidade de N aplicada (kg ha^{-1});

$$\text{Fator parcial de produtividade do N (FPP}_N, \text{ kg kg}^{-1}) = G_N/N_A,$$

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 Cleemput (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 por Argentina e Brasil se devem principalmente à aplicação de doses de N mais baixas, sendo empregados 58 e 48 kg ha^{-1} de N, 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
ERA	0,65	0,57
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) definir doses, tipos de fertilizantes, época e locais de aplicação apropriadas, reduzindo perdas; (ii) proporcionar aumento e aprofundamento do sistema radicular, minimizando perdas por lixiviação; (iii) fornecimento adequado de S, P, molibdênio (Mo), manganês (Mn) e cobre (Cu), melhorando o metabolismo do N na planta; e (iv) controle da irrigação, favorecendo a absorção e reduzindo perdas por lixiviação (FIXEN, 2010; ZARDO FILHO, 2011, VITTI e HEIRINCHS, 2007, FANCELLI, 2010; NAKAMURA et al., 2004). Outra estratégia que pode ser viável é inoculação das sementes de cereais com bactérias diazotróficas endofíticas, pois tais bactérias podem fornecer N às culturas via fixação biológica do N_2 (FBN) e aumentar o aproveitamento do N presente no solo (FANCELLI, 2010; HUNGRIA et al., 2010).

2.3. FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

Todo o N utilizado pelas plantas 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 , onde esse elemento representa quase 80% dos gases, sendo constantemente reabastecida 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). Anualmente, 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*, *Sinorhizobium*. Tais bactérias estabelecem associação com fabáceas, formando nódulos. Apresentam, em alguns casos, altíssima especialidade, como no caso da *Bradyrhizobium japonicum* com a soja. Atualmente, 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 a apresentam simbiose com plantas não leguminosas, principalmente arbóreas.
- *Diazotróficas*: São bactérias que vivem na rizosfera de varias plantas, principalmente poáceas, sem formarem nódulos. Incluem-se nesse grupo as bactérias do gênero *Beijerinckia*, *Azobacter*, *Herbaspirillum* e *Azospirillum*.

2.4. CULTURAS DO MILHO E DO TRIGO

As áreas destinadas à produção de cereais ocupam cerca de 50% da área agrícola mundial (FAO, 2014). Atualmente, essas culturas são a principal fonte de alimentação humana e animal, além de serem amplamente utilizadas como matéria prima na indústria e na produção de combustíveis.

Em 2013, as maiores áreas cultivadas no mundo foram destinadas à produção de trigo e milho. Cultivaram-se mais de 219 milhões de hectares (Mha) com trigo, gerando a produção de aproximadamente 716 milhões de toneladas, o que colocou o trigo como a terceira cultura mais produzida no mundo. A produtividade média global de trigo foi de 3,27 toneladas por hectare. Para o milho, foram destinados mais de 185 Mha, proporcionando produção superior a 1 bilhão de toneladas. A produtividade média global de milho foi da ordem de 5,5 toneladas por hectare (FAOSTAT, 2015).

No Brasil, o milho tem sido cultivado em duas safras. Durante o ano agrícola de 2012/13, o milho foi cultivado em 15,9 Mha, sendo 6,9 Mha na primeira safra e 9,0 Mha na segunda safra. Na primeira safra, foram colhidas 34,8 milhões de toneladas, com produtividade média de 5,1 toneladas por hectare; na segunda safra, a produção foi de 46,9 milhões de toneladas e a produtividade média foi de 5,2 toneladas por hectare (CONAB, 2014). Apesar de a produtividade brasileira estar abaixo da mundial e de países como a Argentina ($6,6 \text{ t ha}^{-1}$) e, principalmente, os EUA (10 t ha^{-1}), o Brasil é o terceiro maior produtor e o segundo maior exportador mundial de milho (FAOSTAT, 2015).

A produção brasileira de milho é marcada por contrastes. Existem produtores que adotam elevado nível tecnológico e outros que utilizam a cultura como forma de subsistência. Isso se torna claro quando se analisa as produtividades dentro de cada Estado do Brasil. Na primeira safra do ano agrícola 2012/13, o Paraná obteve a maior produtividade, com 8150 kg ha^{-1} ; em contrapartida, Pernambuco atingiu a produtividade de 167 kg ha^{-1} (CONAB, 2014).

A cultura do trigo está concentrada na região Sul do Brasil, tendo o Paraná e o Rio Grande do Sul como os principais produtores. Na safra de 2013, foram cultivados apenas 1,9 Mha com trigo no Brasil, produzindo 4,38 milhões de toneladas de trigo,

sendo necessária a importação de 6,64 milhões de toneladas (CONAB, 2014). Essa dependência da importação se deve à competição do trigo com outras culturas no campo, principalmente o milho de segunda safra, a utilização de grande parte das áreas para a produção de plantas de cobertura, como aveia preta, e às incertezas referentes à comercialização da safra (CONAB, 2014).

Para a obtenção dos resultados almejados pelas culturas é fundamental a utilização de programas de manejo visando o uso eficiente de fertilizantes. Entre as medidas recomendadas merecem destaque: a) reconhecer as limitações e as potencialidades do ambiente de produção; b) escolher adequadamente o genótipo e a época de semeadura; c) garantir a distribuição e o aprofundamento das raízes; d) minimizar as condições de estresse; f) atingir o equilíbrio nutricional; g) disponibilizar os nutrientes durante todo o ciclo da cultura; e h) respeitar a marcha de absorção da cultura (FANCELLI, 2010).

2.5. INOCULAÇÃO DE MILHO E TRIGO

Estudos com a inoculação de poáceas com bactérias do gênero *Azospirillum* vêm sendo realizados há varias 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%. Atualmente, as incertezas em relação aos benefícios da inoculação ainda permanecem.

A inoculação das sementes com bactérias promotoras do crescimento das plantas (BPCP) como o *Azospirillum* 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 stress 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 a 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* conjuntamente (AbV5 e AbV6) e as doses de 24 kg de N ha^{-1} na semeadura do milho e 20 kg de 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, mas as máximas produtividades obtidas 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 da ordem de 10% na produtividade de milho por meio da inoculação, alcançando produtividade de 9,5 t ha^{-1} . Entretanto, em outros trabalhos, efeitos positivos da inoculação não foram observados (DIDONET *et al.*, 2000; OGÜT *et al.*, 2005; REPKE, 2013; MARINI *et al.*, 2015). Tais variações se devem à interação entre o genótipo, a comunidade microbiana do solo e a disponibilidade de N (ROESCH *et al.*, 2006). Como são poucos os trabalhos realizados em ambiente de alto rendimento de grãos sob sistema plantio direto, torna-se necessária a realização de novos estudos visando maximizar a produtividade de cereais por meio da inoculação com *Azospirillum brasilense*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no município de Ponta Grossa (PR), na Fazenda Santa Cruz (25° 13' S, 50° 07' W), com altitude de 830 m e precipitação pluvial anual média de 1550 mm (IAPAR, 2014).

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-SO₄²⁻, 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.

Prof.	pH (CaCl ₂)	H+Al	Al	Ca	Mg	K	P ¹	C	S-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	65,8	52	91	349	560
20-40	4,8	72,0	2	25	9	2,4	1,2	26	81,5	34	76	264	660
40-60	4,9	72,0	2	25	8	1,9	0,2	25	77,9	33	79	241	680

¹P extraído com solução de Mehlich 1. ²V = 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, a área recebeu 2,2 t ha⁻¹ de gesso antes da implantação do milho.

3.4. CARACTERIZAÇÃO CLIMÁTICA

A precipitação pluvial média histórica durante o período de cultivo do milho e do trigo na região é de 770 mm e 582 mm, respectivamente. A precipitação pluvial ocorrida durante o ciclo de desenvolvimento da cultura do milho foi de 875 mm (Figura 1a) e durante o ciclo de desenvolvimento da cultura do trigo foi de 473 mm (Figura 1b).

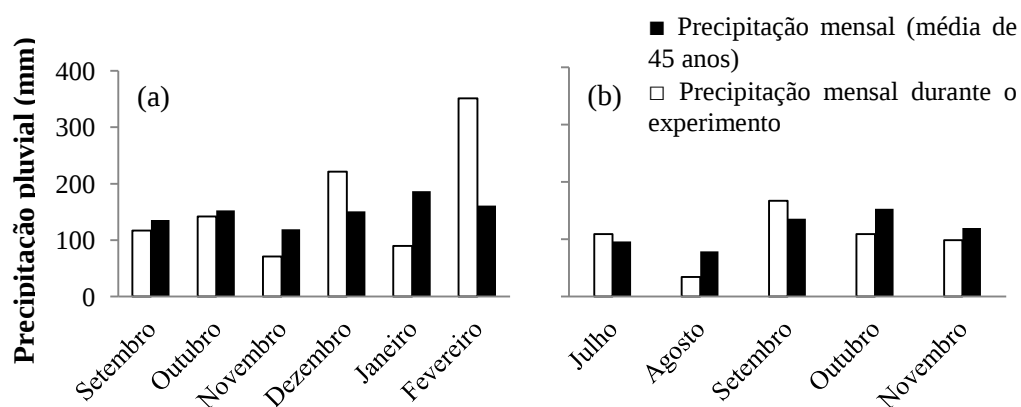


Figura 1. Precipitação pluvial mensal da região de Ponta Grossa (média de 45 anos) e precipitação pluvial mensal ocorrida durante a realização do experimento (a) cultura do milho e (b) cultura do trigo (IAPAR, 2014).

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 208 m² (64,0 m × 6,5 m) e 52 m² (8,0 m × 6,5 m), respectivamente. Nas parcelas, foram empregados os tratamentos sem e com inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e, nas subparcelas, foram utilizadas quatro doses de N-ureia em cobertura.

3.6. INOCULAÇÃO DAS SEMENTES

A inoculação das sementes foi realizada no momento da semeadura com as estirpes de *Azospirillum brasilense* AbV5 e AbV6 via inoculante líquido AzoTotal[®], o qual contém 2,0 x 10⁸ unidades formadoras de colônia (Ufc) mL⁻¹. As dose utilizada para a cultura do milho foi de 4 mL kg⁻¹ de sementes e, para o trigo, de 2,5 mL kg⁻¹ de sementes.

3.7. ADUBAÇÃO NITROGENADA

A adubação nitrogenada foi realizada com ureia em cobertura no estágio de desenvolvimento V₄ da cultura do milho (quatro folhas completamente expandidas) e no perfilhamento da cultura do trigo. Na cultura do milho foram empregados 80, 160 e 240 kg N ha⁻¹, e para a cultura do trigo foram utilizados 40, 80 e 120 kg N ha⁻¹, além de um tratamento controle sem N em cobertura.

3.8. CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L), híbrido P 30R50 YH, foi semeado em 28 de setembro de 2012, em linhas espaçadas de 0,50 m, sendo utilizadas 3,9 sementes por metro de linha, 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 P₂O₅, tendo-se aplicado 120 kg ha⁻¹ de K₂O, 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 P₂O₅ na forma de fosfato monoamônio (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 °C, 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 °C, 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, 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 m² 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.

As seguintes eficiências foram calculadas para a cultura do milho, considerando as doses de N aplicadas em cobertura (80, 160 e 240 kg N ha⁻¹) dentro de cada tratamento sem e com inoculação com *Azospirillum*:

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

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}).

$$\text{Eficiência na recuperação aparente (ERA, } \text{kg kg}^{-1}\text{)} = (N_N - N_0 / N_A),$$

onde, N_N é a quantidade de N acumulada na planta (matéria seca total da parte aérea) no tratamento que recebeu determinada dose de N em cobertura (kg ha^{-1}), N_0 é a quantidade de N acumulada na planta (matéria seca total da parte aérea) no tratamento sem adubação nitrogenada em cobertura (kg ha^{-1}) e N_A é a quantidade de N aplicada em cobertura (kg ha^{-1}).

$$\text{Fator parcial de produtividade do N (FPP}_N\text{, } \text{kg kg}^{-1}\text{)} = G_N / N_A,$$

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}).

3.9. CULTURA DO TRIGO

O trigo (*Triticum aestivum* L), cv. Quartzo, foi semeado em 05 de julho de 2013, em linhas espaçadas de 0,22 m, utilizando-se 150 kg ha^{-1} de sementes. Aplicaram-se 56 kg ha^{-1} de N e 114 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.

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°C , 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 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 °C, 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 m² 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.

As seguintes eficiências foram calculadas para a cultura do trigo, considerando as doses de N aplicadas em cobertura (40, 80 e 120 kg N ha⁻¹) dentro de cada tratamento sem e com inoculação com *Azospirillum*:

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

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).

$$\text{Eficiência na recuperação aparente (ERA, kg kg}^{-1}\text{)} = (N_N - N_0)/N_A,$$

onde, N_N é a quantidade de N acumulada na planta (matéria seca total da parte aérea) no tratamento que recebeu determinada dose de N em cobertura (kg ha⁻¹), N_0 é a quantidade de N acumulada na planta (matéria seca total da parte aérea) no tratamento sem adubação nitrogenada em cobertura (kg ha⁻¹) e N_A é a quantidade de N aplicada em cobertura (kg ha⁻¹).

$$\text{Fator parcial de produtividade do N (FPP}_N\text{, kg kg}^{-1}\text{)} = G_N/N_A,$$

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. AMOSTRAGEM E ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO

Amostras de solo foram coletadas logo após a colheita do milho e pouco antes da semeadura do trigo. Retiraram-se 10 subamostras por subparcela para constituir uma amostra composta das camadas de 0–10 e 10–20 cm, e quatro subamostras para a camada de 20–40 cm de profundidade. As amostras de solo até 20 cm foram retiradas com trado calador, e aquelas de 20 a 40 cm, com trado holandês. Após a coleta, as amostras foram colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C 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 extração com solução de Mehlich 1 (PAVAN *et al.*, 1992) e de S-SO_4^{2-} , por extração com solução de fosfato de cálcio 0,01 mol L^{-1} (CANTARELLA e PROCHNOW, 2001).

3.11. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram submetidos às análises de variância e de regressão. Na ausência de interação significativa entre os tratamentos de inoculação com *Azospirillum brasilense* e de doses de N, os efeitos da inoculação foram comparados pelo teste de Tukey a 5% e aqueles referentes às doses de N foram analisados por meio de regressão polinomial, pelas médias das observações. Desdobramentos foram realizados no caso de interação significativa entre inoculação $\times$ doses de N. 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 não revelaram alterações significativas em função dos tratamentos de inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* (Tabela 4), nas três profundidades estudadas (0-10, 10-20 e 20-40 cm). A ausência nas alterações químicas do solo pode ser atribuída 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 ensaios de inoculação nas culturas de milho e trigo, não observaram alterações significativas no solo nos dois primeiros anos de cultivo, mas constataram redução nos teores de Ca e Mg trocáveis após o terceiro ano de cultivo de milho nos tratamentos que receberam a inoculação com a estirpe AbV5. Tais alterações foram atribuídas à liberação de compostos pela rizosfera, os quais alteram a solubilização de compostos, e ao aumento do enraizamento.

As doses de N aplicadas em cobertura não ocasionaram alterações significativas na acidez ativa (pH CaCl₂) e na acidez trocável (Al), bem como nos teores de Ca, K, P, e S-SO₄²⁻ em todas as profundidades estudadas (Tabela 4). Somente o teor de Mg trocável na camada de 10–20 cm foi aumentado significativamente com as doses de N aplicadas em cobertura.

A adubação nitrogenada tem grande potencial para acidificar o solo por causa da reação de nitrificação (van RAIJ, 1991). Entretanto, a acidificação é mais intensa quanto maior a dose e a frequência de aplicação (CAIRES, 2010). No presente estudo, a aplicação de uma única dose de até 240 kg ha⁻¹ não proporcionou alterações significativas nos componentes da acidez. Outro fator que pode ter contribuído para a não ocorrência de efeito da adubação nitrogenada nos componentes da acidez foi a

Tabela 4. Atributos químicos do solo em diferentes profundidades, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto. Amostras de solo coletadas em junho de 2013.

Tratamento	pH	Al	Ca	Mg	K	P	S-SO ₄ ²⁻
		-----mmol _c dm ⁻³ -----				-----mg dm ⁻³ -----	
		-----0-10 cm-----					
Inoculação							
Sem <i>Azospirillum</i>	5,5	0,00	75,50	17,75	6,48	8,89	31,25
Com <i>Azospirillum</i>	5,5	0,00	75,83	19,83	6,59	8,96	33,08
DMS	0,5	0,00	22,77	6,98	0,74	2,47	3,30
CV%	4,9	0,00	17,13	21,15	6,46	15,73	5,85
Nitrogênio, kg ha ⁻¹							
0	5,4	0,0	71,5	17,8	6,5	8,7	31,7
80	5,5	0,0	74,7	19,5	6,7	9,0	32,5
160	5,5	0,0	74,7	18,0	6,4	9,1	32,8
240	5,6	0,0	78,2	19,8	6,5	9,0	31,8
Efeito	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV%	3,4	0,0	8,2	14,6	11,4	13,2	14,9
		-----10-20 cm-----					
Inoculação							
Sem <i>Azospirillum</i>	4,7	2,8	29,3	9,42	3,03	2,7	46,4
Com <i>Azospirillum</i>	4,8	2,2	33,4	9,83	2,28	2,3	47,3
DMS	0,4	1,1	11,2	1,90	1,02	1,0	5,6
CV%	5,3	25,3	20,2	11,2	18,4	21,9	6,8
Nitrogênio, kg ha ⁻¹							
0	4,7	2,5	30,5	8,5	3,3	2,2	48,0
80	4,8	2,6	29,7	9,5	3,3	2,5	49,4
160	4,8	2,8	31,3	10,0	3,1	2,5	47,1
240	4,8	2,0	34,0	10,5	2,9	2,7	42,8
Efeito	ns	ns	ns	L**	ns	ns	ns
CV%	2,0	32,6	13,8	6,5	27,2	21,91	14,6
		-----20-40 cm-----					
Inoculação							
Sem <i>Azospirillum</i>	4,8	1,8	27,1	9,8	2,2	1,2	58,6
Com <i>Azospirillum</i>	4,8	1,9	27,9	10,2	2,3	1,3	60,4
DMS	0,3	1,0	7,4	5,1	0,9	0,7	4,7
CV%	3,5	30,7	15,3	28,9	21,9	33,0	4,5
Nitrogênio, kg ha ⁻¹							
0	4,7	1,9	26,3	9,3	2,2	1,2	59,6
80	4,8	2,0	29,5	10,7	2,2	1,2	58,9
160	4,8	1,8	26,5	8,8	2,2	1,3	60,6
240	4,8	1,7	27,7	11,0	2,4	1,1	59,0
Efeito	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV%	1,4	38,8	10,8	14,9	10,4	13,2	6,5

DMS: diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; CV: coeficiente de variação; ns: não significativo; L: efeito linear por análise de regressão; **: $P < 0,01$.

calagem superficial realizada seis meses antes a adubação em cobertura. Como o calcário aplicado na superfície apresenta reação lenta no solo (CAIRES et al., 2005), é possível que boa parte do calcário ainda estava reagindo, neutralizando os íons H^+ gerados pela nitrificação. O aumento da acidez do solo pela adubação com fertilizantes nitrogenados tem sido relatado em outros trabalhos (FERNANDES, LIBARDI e da SILVA, 2007; CRUZ et al., 2010; CAIRES et al., 2015).

Os teores de Ca e K trocáveis não foram alterados em função das doses de N aplicadas em cobertura (Tabela 4). Trabalhos realizados por Quaggio (2000), Crusciol et al. (2011) e Caires et al. (2015) evidenciaram movimentação de Ca e Mg para as camadas mais profundas devido à formação de pares iônicos com o NO_3^- oriundo do fertilizante nitrogenado. Tal mecanismo justifica o aumento do Mg trocável observado na camada 10-20 cm com as doses de N aplicadas em cobertura.

Os teores de Ca, Mg e K trocáveis na camada de 0–20 cm (Tabela 4) aumentaram em relação às concentrações existentes no solo antes do início do estudo (Tabela 3). O aumento nos teores de Ca e Mg trocáveis pode ser atribuída à reação do calcário dolomítico aplicado 13 meses antes da amostragem do solo. Para o K trocável, houve aumento de $1,7 \text{ mm}_c \text{ dm}^{-3}$ na camada de 0–20 cm. Tal incremento se deve ao manejo da adubação potássica na área, sendo que 240 kg ha^{-1} de K_2O foram aplicados na sucessão milho/trigo. 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. Na camada de 20–40 cm, também foi observado certo aumento nos teores das bases trocáveis. Diversos trabalhos têm evidenciado a migração de cátions juntamente com o $S-SO_4^{2-}$ para as camadas mais profundas (CAIRES et al., 2002, 2011; BLUM et al., 2011). Tal mecanismo justifica,

juntamente com a exportação de S pela cultura, a sensível redução nos teores de S-SO_4^{2-} observada entre as duas amostragens de solo.

A ausência de mudança na disponibilidade de P em função da adubação nitrogenada de cobertura pode estar relacionada ao fato de a extração de P pela cultura do milho ter sido menor que a quantidade fornecida pela adubação fosfatada. Resultados semelhantes foram obtidos por Fernandes, Libardi e Silva (2007) e Zardo Filho (2011). De modo geral, o solo do presente estudo apresentava alta fertilidade. Tomando como base os valores médios das camadas de 0–10 e 10–20 cm, a acidez do solo não era limitante e os teores de Ca, Mg e S-SO_4^{2-} eram suficientes para atender a demanda das culturas (van RAIJ, 2011). Além disso, o solo não apresenta teores tóxicos de Al em todo o perfil (van RAIJ, 2011). Os teores de P e K estavam acima do nível crítico para as culturas manejadas em plantio direto (VIEIRA et al., 2013).

4.2. TEORES DE NUTRIENTES NAS FOLHAS DE MILHO E TRIGO

Os teores de nutrientes nas folhas do milho (Tabela 5) e do trigo (Tabela 6) não foram influenciados significativamente pela interação entre inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e doses de N em cobertura. A inoculação com *Azospirillum brasilense* não alterou de forma significativa os teores foliares de macronutrientes, evidenciando que, nas condições do presente estudo, tais bactérias não contribuíram para o fornecimento de nutrientes para as culturas na fase vegetativa. As doses de N em cobertura proporcionaram incrementos lineares nos teores de N, P e S, e não influenciaram os teores de Ca, Mg e K no tecido foliar do milho. Para o trigo, cultivado após o milho, as doses de N em cobertura aumentaram linearmente os teores de N, K e Ca nas folhas, e não alteraram os teores foliares de P, Mg e S.

Tabela 5. Concentrações de nutrientes nas folhas de milho, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S
-----g kg ⁻¹ -----						
Inoculação						
Sem <i>Azospirillum</i>	34,2	2,8	22,7	4,8	2,3	1,6
Com <i>Azospirillum</i>	34,7	2,8	22,2	5,3	2,8	1,6
DMS	2,9	0,2	4,0	1,7	1,9	0,2
CV%	4,8	3,9	9,7	19,7	42,1	5,6
Nitrogênio, kg ha⁻¹						
0	32,5	2,6	23,2	5,1	2,7	1,5
80	33,0	2,7	22,6	5,3	2,8	1,5
160	36,2	2,9	23,8	4,9	2,5	1,9
240	36,0	2,8	24,1	4,8	2,2	1,7
Efeito	L**	L*	ns	ns	ns	L**
CV%	4,8	5,2	5,4	16,8	24,8	11,1

DMS: diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; CV: coeficiente de variação; ns: não significativo; L: efeito linear por análise de regressão; *: $P < 0,05$ e **: $P < 0,01$

Tabela 6. Concentrações de nutrientes nas folhas de trigo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S
-----g kg ⁻¹ -----						
Inoculação						
Sem <i>Azospirillum</i>	35,9	2,4	23,2	3,2	1,8	3,0
Com <i>Azospirillum</i>	36,2	2,4	22,3	3,5	1,9	3,1
DMS	1,9	0,3	3,4	1,1	0,4	0,5
CV%	3,1	7,4	8,4	19,0	11,6	8,9
Nitrogênio, kg ha⁻¹						
0	34,4	2,2	20,9	3,0	1,7	2,9
40	35,7	2,3	22,2	3,4	1,9	2,9
80	35,4	2,3	23,0	3,5	1,8	3,2
120	38,6	2,6	24,9	3,6	1,9	3,1
Efeito	L**	ns	L**	L**	ns	ns
CV%	5,6	8,6	5,8	7,6	4,7	9,3

DMS: diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; CV: coeficiente de variação; ns: não significativo; L: efeito linear por análise de regressão; **: $P < 0,01$

A ausência de efeito da inoculação com *Azospirillum* na nutrição de P, K, Ca, Mg e S do milho (Tabela 5) e do trigo (Tabela 6) podem ser atribuídos à alta

disponibilidade de tais nutrientes no solo aliada à ausência de teores tóxicos de Al. Dessa forma, os possíveis benefícios da inoculação com *Azospirillum* no enraizamento (VOLFSON *et al.*, 2013) e na solubilização de P (RODRIGUEZ *et al.*, 2007) não influenciaram o desenvolvimento inicial das plantas. Para os teores foliares de N nas culturas de milho (Tabela 5) e trigo (Tabela 6), a ausência de efeito da inoculação com *Azospirillum* pode ser atribuída à adubação nitrogenada realizada na cultura de aveia preta (15 kg ha⁻¹) e na semeadura do milho (45 kg ha⁻¹) e do trigo (56 kg ha⁻¹). Destaca-se que o fornecimento de N para o milho via inoculação com *Azospirillum* tem sido da ordem de 30 a 50 kg ha⁻¹ durante o ciclo da cultura (FANCELLI, 2010). Hungria *et al.* (2010), realizando estudos em solo com alta fertilidade na camada de 0–20 cm, também não observaram alterações significativas nos teores de macronutrientes nas folhas de milho. Para o trigo, os mesmos autores 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 de N, K e S para a estirpe AbV5, e aumento no teor de N e redução no teor de K para a estirpe AbV6.

O aumento na concentração de N no tecido foliar do milho (Tabela 5) e do trigo (Tabela 6) 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 pelas culturas. Diversos estudos têm mostrado resultados semelhantes para o milho (MELLO, ARZOLA e KIEHL, 1988; SILVA *et al.*, 2005; GOMES *et al.*, 2007; COSTA *et al.* 2012) e para o trigo (TEIXEIRA FILHO *et al.*, 2007, 2010).

O incremento no teor de P nas folhas de milho em função das doses de N aplicadas em cobertura (Tabela 5) 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 Tayz e Zeiger (2009), cerca de 25% do total de energia consumida pela planta está ligada a processos envolvendo a assimilação de N. Para o S nas folhas de milho (Tabela 5), as alterações ocorridas podem ser atribuídas ao sinergismo entre N e S (MALAVOLTA e MORAES, 2007). A relação N/S nas folhas de milho foi de 21/1, sendo que para a maioria das plantas cultivadas tal relação varia de 8/1 a 15/1 (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010). Além da relação de sinergismo entre tais nutrientes e o N, outra possível causa dos aumentos observados dos teores desses nutrientes é o aumento do crescimento radicular proporcionado pela adubação nitrogenada (RAO *et al.*, 1992; ZARDO FILHO, 2011).

O incremento nos teores de K observados nas folhas de trigo em função das doses de N em cobertura (Tabela 6) 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 turgido (TAIZ e ZEIGER, 2009). 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 aumento no teor de Ca no tecido foliar do trigo com as doses de N aplicadas em cobertura (Tabela 6) pode ter sido decorrente de efeito sinérgico com o N (MALAVOLTA e MORAES, 2007). De acordo com Taiz e Zeiger (2009), o Ca é um nutriente essencial da parede celular, pois o pectato de cálcio é o principal componente da lamela média. Como esse composto é responsável pela estruturação do tecido, o aumento da divisão celular promovida pelo N resulta em aumento da necessidade de Ca.

As concentrações de todos os nutrientes avaliados nas folhas das culturas de milho e trigo encontraram-se dentro da faixa considerada adequada ou pouco acima dos teores normais, segundo os dados de Malavolta et al. (1997).

4.3. PRODUTIVIDADE DE GRÃOS DE MILHO E TRIGO

A produtividade de grãos de milho foi influenciada significativamente pela interação entre inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e doses de N em cobertura (Figura 2). A inoculação com *Azospirillum* reduziu a produtividade de grãos de milho na ausência de adubação nitrogenada em cobertura e aumentou a produtividade quando a maior dose de N foi aplicada (240 kg ha^{-1}) (Figura 2a). A redução na produtividade de milho nas parcelas que receberam N apenas na semeadura contraria os resultados de diversos autores (FULCHIERI e FRIONI, 1994; CAVALLET et al., 2000; QUADROS, 2009; HUNGRIA et al., 2010, NOVAKOWISKI et al., 2011, LANA et al., 2012). Tal resultado pode ter ocorrido em função do perfilhamento das plantas de milho observado nas parcelas que receberam a inoculação (Figura 3). A inoculação com *Azospirillum* estimula a formação de reguladores de crescimento das plantas (REIS JÚNIOR et al., 2008, CASSÁN et al., 2009). Entre esses reguladores destacam-se as citocininas, em especial a zeatina, que são responsáveis pelo estímulo ao desenvolvimento de perfilhos (TAMAS, 1995). Na ausência de adubação nitrogenada em cobertura, tais perfilhos devem ter competido com a planta mãe, resultando em diminuição na produtividade de grãos. Na presença da maior dose de N em cobertura (240 kg ha^{-1}), observou-se que os perfilhos produziram espigas de tamanho reduzido, o que justifica o aumento na produtividade de grãos obtido nesse tratamento. Estudos realizados com híbridos de alta produtividade na região sul do Brasil demonstraram efeitos benéficos do perfilhamento na produtividade do milho (SANGOI et al., 2010;

2011a; 2011b, 2012). Pelos resultados do presente estudo, torna-se claro que o perfilhamento pode beneficiar a produtividade de milho somente quando as plantas estiverem bem nutridas em N.

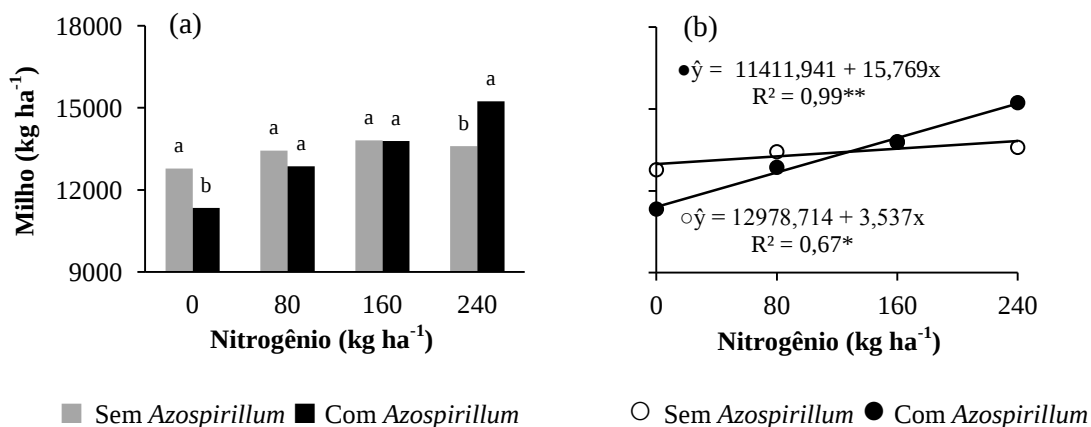


Figura 2. Produtividade de grãos de milho, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasiliense* (a) e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura (b) no sistema plantio direto. Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%. *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$.



Figura 3. Desenvolvimento da cultura do milho no momento da aplicação do N em cobertura: (a) Sem *Azospirillum brasiliense*, (b) Com *Azospirillum brasiliense* e aos 21 dias após a adubação; (c) Sem *Azospirillum brasiliense*, (d) Com *Azospirillum brasiliense*.

A adubação nitrogenada aumentou linearmente a produtividade de grãos de milho, tanto na ausência como na presença de inoculação com *Azospirillum* (Figura 2b). De acordo com as equações de regressão ajustadas, a aplicação de 240 kg ha^{-1} de N no estágio V_4 da cultura do milho aumentou a produtividade em 849 kg ha^{-1} de grãos na ausência do inoculante e em 3785 kg ha^{-1} de grãos na presença de inoculação com *Azospirillum*. Os incrementos na produtividade de milho com a maior dose de N aplicada em cobertura (240 kg ha^{-1}) foram de aproximadamente 6,5%, sem inoculação, e 33%, com inoculação de *Azospirillum*. Os efeitos benéficos da adubação nitrogenada em cobertura na produtividade do milho têm sido relatados com frequência na literatura (SCHMIDT et al., 2002; SOUZA e SORATTO, 2006; RAMBO et al., 2007; PAVINATO et al., 2008; CRUCIOL et al., 2011; ZARDO FILHO, 2011; VILELA et al., 2012; PITTA et al., 2013). Entretanto, resultados de estudos com produtividades de milho próximas a 13 t ha^{-1} sem aplicação de N em cobertura, e superiores a 15 t ha^{-1} com a adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense*, não têm sido relatados.

As altas produtividades de grãos de milho obtidas na ausência de adubação nitrogenada em cobertura, no presente estudo, podem ser atribuídas à alta fertilidade do solo, em especial aos altos teores C-orgânico em todo o perfil do solo (Tabela 3). Em estudo realizado em ecossistemas tropicais, em nove países e com diversas culturas, verificou-se que 79% do N absorvido pelas plantas foram fornecidos pelo solo e apenas 21% pelo fertilizante (DOURADO NETO et al., 2010).

A produtividade de grãos de trigo também foi influenciada significativamente pela interação entre inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e doses de N em cobertura (Figura 4). A inoculação com *Azospirillum* alterou a produtividade de trigo em todas as doses de N, proporcionando aumento nas parcelas sem N e com 40 e

80 kg N ha⁻¹, e redução nas parcelas com 120 kg N ha⁻¹ em cobertura (Figura 4a). Os aumentos na produtividade de trigo decorrentes da inoculação com *Azospirillum* foram de 25%, na ausência de N em cobertura, e de 16% com as doses de 40 e 80 kg ha⁻¹ em cobertura. 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 de *Azospirillum brasilense* empregadas no presente estudo. Incrementos na produtividade de trigo com a utilização de *Azospirillum* na presença de baixas doses de N também foram relatados em outros estudos (ZORITA e CANIGIA, 2008; PICCININ *et al.*, 2011, 2013). A redução na produtividade de trigo devida à inoculação com *Azospirillum* quando se utilizou 120 kg N ha⁻¹ em cobertura foi de 28%. Essa redução na produtividade de trigo com a inoculação de *Azospirillum* na dose mais alta de N foi, possivelmente, devido do acamamento das plantas ocorrido nesse tratamento.

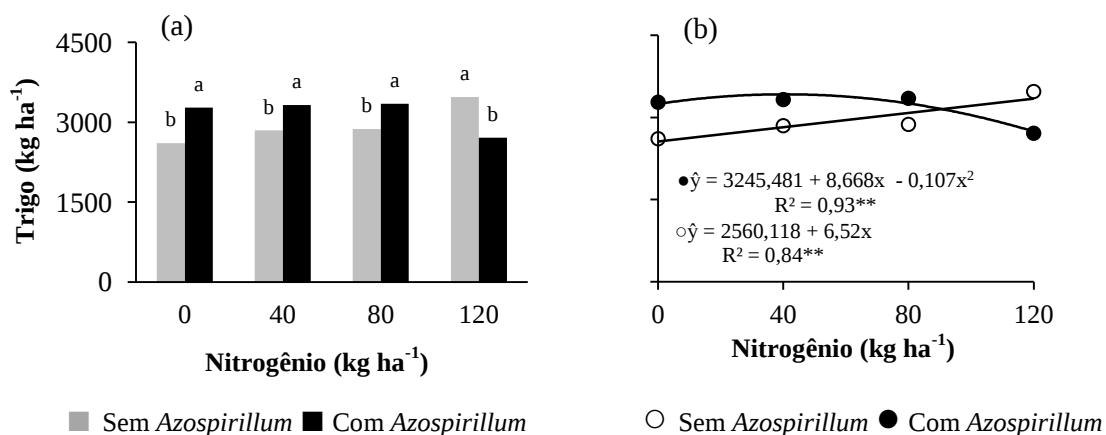


Figura 4. Produtividade de grãos de trigo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* (a) e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura (b) no sistema plantio direto. Colunas seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%. **: $P < 0,01$.

As doses de N aplicadas em cobertura aumentaram a produtividade de trigo, tanto na ausência como na presença de inoculação com *Azospirillum* (Figura 4b). O aumento na produtividade do trigo com as doses de N ocorreu de forma linear, no tratamento sem inoculação, e de acordo com o modelo quadrático, quando as sementes

foram inoculadas com *Azospirillum*. De acordo com as equações de regressão ajustadas, a máxima produtividade de trigo, de 3342 kg ha⁻¹, seria alcançada com a aplicação de 120 kg N ha⁻¹, quando as sementes não foram inoculadas; na presença de inoculação com *Azospirillum*, a máxima produtividade, de 3421 kg ha⁻¹, seria obtida com a dose 40 kg N ha⁻¹ em cobertura. Aumentos na produtividade de grãos de trigo em função da adubação nitrogenada em cobertura têm sido relatados em diversos trabalhos (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).

O trigo apresentou produtividade aquém do esperado, considerando que o solo apresentava alta fertilidade e que se utilizou alta tecnologia para produção. Isso deve ter acontecido, pelo menos em parte, pela combinação de dois fatores: (i) a semeadura foi um pouco tardia em decorrência da atípica e excessiva precipitação pluvial ocorrida em junho de 2013 e (ii) ocorreu geada após o florescimento da cultura.

4.4. EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES PELAS CULTURAS DE MILHO E TRIGO

A extração de macronutrientes pela cultura do milho não foi influenciada pela interação inoculação com *Azospirillum* × doses de N. A inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* não alterou a extração de nenhum dos nutrientes estudados pela cultura do milho (Tabela 7). As doses de N em cobertura, por sua vez, proporcionaram aumento linear na extração de N, Mg e S, quadrático na extração de P e Ca, e não alterou a extração de K.

Como a inoculação com *Azospirillum* não alterou a absorção de macronutrientes pelas plantas de milho (Tabela 7), pode-se inferir que as alterações na produtividade de milho ocorridas em função da inoculação (Figura 2) não foram decorrentes de fatores nutricionais. Aumentos na extração de N pela cultura do milho com a inoculação foram

observados por Joe et al., (2012), 60 dias após a semeadura. Reis Junior et al. (2008) observaram aumento na massa seca e do N nas raízes em plantas de milho com 25 dias, utilizando *Azospirillum amazonense*. Aumento na massa seca das plantas no estágio R₃ da cultura do milho foram encontrados por Marini et al. (2015).

Tabela 7. Extração de nutrientes pela cultura do milho, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e as doses de nitrogênio em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S
	-----kg ha ⁻¹ -----					
Inoculação						
Sem <i>Azospirillum</i>	254,4	39,8	284,5	28,7	36,6	18,8
Com <i>Azospirillum</i>	264,1	39,2	315,6	28,6	38,4	18,1
DMS	10,2	5,2	39,8	5,61	16,2	4,9
CV%	2,2	7,8	7,6	11,1	24,6	15,1
Nitrogênio, kg ha⁻¹						
0	214,4	38,6	290,0	24,2	30,6	16,7
80	247,4	41,8	284,8	25,4	31,4	16,7
160	284,2	39,0	286,8	36,1	48,6	21,3
240	291,0	30,7	338,6	29,0	39,5	19,1
Efeito	L**	Q**	Ns	Q*	L**	L**
CV%	6,8	9,1	14,0	15,9	18,12	9,0

DMS: diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; CV: coeficiente de variação; ns: não significativo; L e Q: efeito linear e quadrático por análise de regressão; **: $P < 0,01$.

O aumento na extração de N pelo milho com as doses de N aplicadas em cobertura (Tabela 7) 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 foi observado por Reis Junior et al. (2008), em plantas jovens. Dartora et al. (2013) e Marine 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 estágio R₃, respectivamente. Aumento na extração de N pelo milho em função de doses de N aplicadas em cobertura também foi observado por Zardo Filho (2011).

A maior extração de P pela cultura do milho em função das doses de N aplicadas em cobertura (Tabela 7) pode ser atribuída ao sinergismo entre N e P (MALAVOLTA e

MORAES, 2007). Além disso, o crescimento radicular do milho é favorecido pela adubação nitrogenada (RAO et al., 1992; ZARDO FILHO, 2011). Como o P é absorvido quase que exclusivamente por difusão (BARBER, 1966 apud MALAVOLTA 2006), a absorção desse nutriente é dependente do crescimento radicular (NOVAES e SMYTY, 1999). Tais resultados estão de acordo com os observados do Reis Junior et al. (2008) e Zardo Filho (2011).

O aumento na extração de Ca, Mg e S em função da aplicação de N pode ser atribuído ao sinergismo entre esse nutrientes e o N (MALAVOLTA e MORAES, 2007). O N proporciona aumento da divisão celular e dos teores de clorofila, resultando em aumento da necessidade de Ca para a formação das paredes celulares e de Mg para a formação da molécula de clorofila (TAIZ E ZEIGER, 2009). O aumento dos teores de S pode ser atribuído a relação N/S (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010).

Apesar de a análise realizada pelas médias das observações terem revelado que somente as doses de N em cobertura aumentaram a extração de N pela cultura do trigo (Tabela 8), houve interação significativa entre a inoculação com *Azospirillum* e as doses de N em cobertura para a extração de N pelo trigo. O desdobramento da interação revelou que a inoculação das sementes de trigo com *Azospirillum* aumentou a extração de N somente nas parcelas sem N e com 40 kg N ha⁻¹ em cobertura (Tabela 9). A aplicação de N em cobertura, por sua vez, aumentou linearmente a extração de N pelo trigo, tanto na ausência e como na presença de inoculação com *Azospirillum*. As atuais recomendações de adubação nitrogenada para a cultura do trigo levam em consideração a cultura antecessora (EMBRAPA, 2012). Quando o trigo é cultivado após o milho, como no presente estudo, a recomendação para o Estado do Paraná é que a adubação seja realizada com doses entre 25 e 50 kg N ha⁻¹ na semeadura e de 30 a 90 kg N ha⁻¹ em cobertura. Sendo assim, a inoculação com *Azospirillum* proporcionou resultados

positivos na absorção de N quando foram utilizadas doses de N abaixo ou no limite inferior da recomendação. Tendo em vista que os tratamentos com as mais baixas doses de N no trigo também receberam as mais baixas doses de N no milho, as possíveis causas para tais respostas são (i) a redução do estoque de N disponível no solo em função das baixas doses de N adicionadas para a sucessão milho/trigo (DOBERMANN, 2007) aliadas à alta exportação de N pela cultura do milho e (ii) a relação C/N do milho superior a 100/1 (EMBRAPA, 2006) o que resulta em imobilização do N (AITA e GIACOMINI, 2007). Dessa forma, a FBN proporcionada pelo *Azospirillum brasilense* (HUNGRIA et al., 2010) ganha importância no fornecimento de N para a cultura do trigo quando a disponibilidade de N no solo é baixa. O incremento na produtividade de grãos de trigo com a inoculação de *Azospirillum* nas parcelas que receberam até 80 kg N ha⁻¹ em cobertura (Figura 3) deve ter sido fortemente influenciado pela maior absorção de N pelas plantas quando doses mais baixas de N foram empregadas na adubação de cobertura.

Tabela 8. Extração de nutrientes pela cultura do trigo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e as doses de nitrogênio em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S
-----kg ha ⁻¹ -----						
Inoculação						
Sem <i>Azospirillum</i>	66,9	6,0b	109,8	8,0	5,8	7,0b
Com <i>Azospirillum</i>	76,2	8,1a	116,1	10,7	8,4	8,7a
DMS	11,2	1,6	17,4	7,7	5,0	0,6
CV%	8,9	12,5	8,8	47,1	39,8	4,33
Nitrogênio, kg ha⁻¹						
0	63,0	6,8	98,5	6,9	6,1	6,7
40	70,5	8,0	109,0	10,1	8,1	8,0
80	73,5	7,0	116,9	9,7	7,2	8,8
120	79,1	6,5	124,9	10,7	7,1	7,9
Efeito	L**	ns	L**	ns	ns	Q*
CV%	4,8	14,3	11,6	28,7	28,9	13,7

DMS: diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; CV: coeficiente de variação; ns: não significativo; L e Q: efeito linear e quadrático por análise de regressão; **: $P < 0,01$.

Tabela 9. Desdobramento da interação entre os tratamentos de inoculação com *Azospirillum brasilense* × doses de N para a extração de nitrogênio pela cultura do trigo em sistema plantio direto.

Tratamento	Nitrogênio, kg ha ⁻¹				Efeito
	0	40	80	120	
Inoculação	-----kg ha ⁻¹ -----				
Sem <i>Azospirillum</i>	54,8b	64,0b	71,6	77,2	L**
Com <i>Azospirillum</i>	71,3a	77,0a	75,3	81,1	L**
DMS	6,1				

DMS: diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; CV: coeficiente de variação; ns: não significativo; L: efeito linear por análise de regressão; **: $P < 0,01$.

A extração de P, K, Ca, Mg e S pela cultura do trigo não foi influenciada pela interação entre a inoculação com *Azospirillum* e as doses de N em cobertura. A inoculação de sementes de trigo com *Azospirillum* promoveu aumento da extração de P e S pela cultura (Tabela 8). A resposta na extração de P pode ter ocorrido devido ao aumento do enraizamento (VOLFSON et al., 2013) e à solubilização de fosfatos (RODRIGUEZ et al., 2007) promovidos pelo *Azospirillum*. As diferenças entre as repostas obtidas para teores de P nas folhas (Tabela 6) e extração de P pelas plantas (Tabela 8) possivelmente ocorreu devido à alta mobilidade do nutriente na planta, pois o P se movimenta com facilidade para as regiões jovens da planta como a folha bandeira no início do florescimento (MALAVOLTA, 2006). O aumento no S pode ser atribuído ao fornecimento de N promovido pela inoculação o que resulta em aumento na demanda de S e ao aumento no enraizamento da cultura (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010; VOLFSON et al., 2013).

A extração de K pela cultura do trigo foi influenciada somente pelas doses de N em cobertura (Tabela 8). Tal resultado pode estar relacionado com (i) o equilíbrio osmótico que regula o processo de abertura e fechamento dos estômatos, o qual é responsável pelo transporte de compostos nitrogenados (TAIZ e ZEIGER, 2009), e (ii) o aumento da necessidade de K pela planta em virtude do aumento da absorção de N-NH_4^+ (DIBB e WELCH, 1976). Segundo Gross (1976), em condições de alta

disponibilidade de N, o K favorece o equilíbrio nutricional das plantas ocasionando melhoria no enchimento de grãos, o que proporciona aumento na extração. Para o S o aumento da extração do ser atribuído a relação N/S (CANTARELLA e MONTEZANO, 2010) tendo em vista que ambos os nutrientes tiveram aumento da na extração em função da aplicação de N.

4.5. EFICIÊNCIA NA UTILIZAÇÃO DO NITROGÊNIO PELAS CULTURAS

A análise de variância não revelou interação significativa entre os tratamentos de inoculação $\times$ doses de N em cobertura para nenhuma das eficiências calculadas para a cultura do milho (Tabela 10): eficiência agrônômica (EA), eficiência na recuperação aparente (ERA) e fator parcial de produtividade do N (FPP_N).

Tabela 10. Eficiência agrônômica (EA), eficiência na recuperação aparente (ERA) e fator parcial de produtividade do N (FPP_N) para a cultura do milho, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamento	EA	ERA	FPP_N
-----kg kg ⁻¹ -----			
Inoculação			
Sem Azospirillum	6,0b	0,3	103,6
Com Azospirillum	16,9a	0,5	103,5
DMS	4,9	0,5	16,9
CV%	21,2	60,1	8,1
Nitrogênio, kg ha⁻¹			
80	13,7	0,4	164,4a
160	10,9	0,4	86,2b
240	9,8	0,3	60,1c
DMS	6,2	0,3	7,9
CV%	32,8	39,14	4,6

DMS: diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; CV: coeficiente de variação.

A EA, que considerou o incremento na produtividade de grãos de milho em relação à dose de N aplicada em cobertura, foi significativamente aumentada com a inoculação de *Azospirillum* e não foi alterada pelas doses de N aplicadas em cobertura

(Tabela 10). A EA obtida por meio da inoculação das sementes com *Azospirillum* foi de 16,9 kg kg⁻¹. Tal valor está abaixo da média mundial observada por Ladha et al. (2005) para a cultura do milho, que é de 24,2 kg kg⁻¹. Tal resultado pode ser atribuído ao alto rendimento de grãos observado na ausência da adubação de cobertura. A ausência de efeito das doses de N na EA não era esperada, tendo em vista que diversos trabalhos têm demonstrado redução da EA em função do aumento das doses de N (FERNANDES et al., 2005; FARINELLI e BORGES, 2010; ZARDO FILHO, 2011; AMADO, et al., 2013). Apesar do valor da EA ter sido inferior à média mundial (LADHA et al., 2005), a EA média do experimento esteve dentro dos valores encontrados por Doberman (2007), os quais estão entre 10 e 30 kg kg⁻¹.

A ERA, que levou em conta o aumento do N acumulado na parte aérea do milho em relação à dose de N aplicada em cobertura, não foi alterada significativamente pela inoculação e pelas doses de N (Tabela 10). Esses resultados reforçam a hipótese de que, em solos de alta fertilidade e com elevados teores de C-orgânico, o principal fornecedor de N para a cultura é o solo, e não os fertilizantes. A ERA foi inferior a média mundial determinada por Ladha et al. (2005), mas esteve condizente com os valores encontrados por Dobermann (2005), os quais foram de 0,3 a 0,5.

O FPP_N, obtido pela relação entre a produtividade de grãos de milho e a dose de N aplicada em cobertura, não foi alterado pela inoculação com *Azospirillum* e apresentou valores mais baixos na medida em que houve aumento das doses de N aplicadas em cobertura (Tabela 10). 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; ZARDO FILHO, 2011, AMADO, 2013). 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. No presente estudo, os valores de FPP_N variaram de 60 a 164 kg kg⁻¹, mas deve-se considerar que o FPP_N foi calculado considerando somente as doses de N aplicadas em cobertura.

Na cultura do trigo, a EA e a ERA não foram influenciadas significativamente pela interação entre os tratamentos de inoculação × doses de N em cobertura. Porém, houve influência significativa da interação entre os tratamentos de inoculação × doses de N em cobertura para o FPP_N.

A EA do trigo foi significativamente reduzida pela inoculação com *Azospirillum* (Tabela 11). Isso certamente aconteceu por causa da redução na produtividade de grãos de trigo (Figura 3) observada no tratamento com inoculação quando foi empregada a maior dose de N em cobertura (120 kg ha⁻¹). As doses de N não ocasionaram alterações significativas na EA do trigo. Os baixos valores de EA encontrados no presente estudo foram, pelo menos em parte, ocasionados pela semeadura um pouco tardia decorrente do excesso de chuvas e pela ocorrência de geada no início da fase reprodutiva da cultura, o que acarretou em diminuição do potencial produtivo do trigo.

Tabela 11. Eficiência agrônômica (EA), eficiência na recuperação aparente (ERA) e fator parcial de produtividade do N (FPP_N) para a cultura do trigo, considerando a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no sistema plantio direto.

Tratamento	EA	ERA	FPP _N
-----kg kg ⁻¹ -----			
Inoculação			
Sem <i>Azospirillum</i>	5,5a	0,6	45,4
Com <i>Azospirillum</i>	-0,9b	0,8	49,2
DMS	5,9	0,8	10,5
CV%	126,5	55,2	10,9
Nitrogênio, kg ha⁻¹			
40	3,6	1,3a	77,2a
80	2,1	0,6b	38,9b
160	1,2	0,4b	25,8c
DMS	5,5	0,6	6,2
CV%	151,2	46,11	8,0

DMS: diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; CV: coeficiente de variação.

A ERA do trigo não foi significativamente alterada pela inoculação com *Azospirillum* (Tabela 11). Entretanto, houve redução nos valores da ERA com o emprego das doses de 80 e 120 kg N ha⁻¹ em relação à dose de 40 kg N ha⁻¹. Na dose de 40 kg N ha⁻¹, a ERA foi de 1,25 kg kg⁻¹. A ocorrência de valores de ERA acima de 1 pode ser atribuída ao método utilizado para o cálculo da ERA, uma vez que, no presente estudo, não foi utilizado ¹⁵N. Valores de ERA superiores a 1 também foram relatados por Fernandes et al. (2006) para a cultura do milho.

O desdobramento da interação entre os tratamentos de inoculação × doses de N em cobertura para o FPP_N revelou que a inoculação com *Azospirillum* aumentou o FPP_N do trigo somente quando foi empregada a dose de 40 kg N ha⁻¹ (Tabela 12). Quando as sementes de trigo não foram inoculadas com *Azospirillum*, as doses de 80 e 120 kg N ha⁻¹ em cobertura proporcionaram valores de FPP_N significativamente menores do que a dose de 40 kg N ha⁻¹. Quando as sementes de trigo foram inoculadas com *Azospirillum*, o FPP_N diminuiu na medida em que se aumentou a dose de N em cobertura. O aumento do FPP_N com a inoculação de *Azospirillum* 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). Os valores de FPP_N foram superiores a média mundial, de 44,5 kg kg⁻¹, descrita por Ladha et al. (2005), somente quando foram empregados 40 kg N ha⁻¹ em cobertura. Os valores de FPP_N estiveram abaixo dos

Tabela 12. Desdobramento da interação entre os tratamentos de inoculação com *Azospirillum brasilense* × doses de N para o fator parcial de produtividade do N (FPP_N) do trigo em sistema plantio direto.

Tratamento	Nitrogênio, kg ha ⁻¹			DMS
	40	80	120	
Inoculação	-----kg ha ⁻¹ -----			
Sem <i>Azospirillum</i>	71,2Ba	35,9b	28,9b	8, 8
Com <i>Azospirillum</i>	83,2Aa	41,9b	22,6c	
DMS		7,1		

DMS: diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%.

esperados para área de alta tecnologia com o emprego das maiores doses de N (80 e 120 kg ha⁻¹). Isso ocorreu devido ao acamamento observado nos tratamentos que receberam maior dose de N em cobertura e à geada que limitou a produtividade de trigo por ter ocorrido em um período crítico da cultura.

5. CONCLUSÕES

- A inoculação com *Azospirillum brasilense* e a adubação nitrogenada em cobertura para a produção de milho e trigo em sistema plantio direto não proporcionaram alterações químicas relevantes no solo em curto prazo.
- A inoculação das sementes do milho híbrido P 30R50 YH com *Azospirillum brasilense* não proporcionou benefícios na nutrição da planta, mas aumentou a eficiência agrônômica da adubação nitrogenada em cobertura. A produtividade do milho foi diminuída com a inoculação de *Azospirillum* na ausência N e aumentada com a aplicação de 240 kg N ha⁻¹ em cobertura.
- A inoculação das sementes de trigo, cv. Quartzo, com *Azospirillum brasilense* aumentou a absorção de N e o fator parcial de produtividade do N (FPP_N) quando doses baixas de fertilizantes nitrogenados foram aplicadas em cobertura, e promoveu aumento na absorção de P e S pela cultura do trigo. A produtividade de trigo foi aumentada com a inoculação de *Azospirillum* e esse efeito parece ter sido decorrente da maior absorção de N pelas plantas quando doses mais baixas de N foram empregadas na adubação de cobertura.
- A inoculação das sementes de milho e trigo com *Azospirillum brasilense* em ambiente de alto rendimento de grãos sob plantio direto mostrou ser uma prática eficiente para maximizar a produtividade de grãos das culturas, juntamente com o ajuste da adubação nitrogenada em cobertura.

6. 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., BORTOLOTO, 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: 25/03/2012.
- 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.
- BINI, A.R. **Alterações químicas do solo e comportamento do trigo em função da calagem superficial e da adubação nitrogenada em sistema plantio direto**. 2012. 31f. Trabalho de Conclusão de curso (Graduação em Agronomia) Monografia. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2012.
- BLUM, J.; CAIRES, E.F.; AYUB, A.R.; DA FONSECA, A.F.; SOZIM, M.; FAUATE, M. Soil chemical Attributes and Grape Yield as Affected by Gypsum Application in Southern Brazil, **Communications Soil Science Plant Analysis**, v.42, p.1434-1446, 2011.
- 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 lamina de água. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola 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.
- CAIRES, E. F.; ALLEONI, L.R.F.; CAMBRI, M.A.; BARTH, G. Surface application of lime for crop grain production under a no-till system. **Agronomy Journal**, v.97, p.791-798, 2005.
- 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.; 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 Agricola**, v.68, p.209-216, 2011.

CAIRES, E.F.; BARTH, G; GARBUIO, F.J; KUSMAN, M.T. Correção da acidez do solo, crescimento radicular e nutrição do milho de acordo com a calagem em superfície em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.1011-1022, 2002.

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.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG; Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. P.375-470.

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 Agrônômico, p. 225-230, 2001.

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 growth 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.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v.1 - Safra 2013/14, n.12 - Décimo Segundo Levantamento, Brasília, p. 1-127, set. 2014.

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.

CRUZ, R.S.; SANTOS, A.C.; CASTRO, J.G.D; ALEXANDRINO, E.; Produtividade de Capim-Camerron estabelecida em duas classes de solos e submetido a doses crescentes de nitrogênio no norte tocaninense. **Acta Scientiarum**. v.32, n.4, p. 393-399, 2010.

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.

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. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido à inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Bras**, v.35, p.401–411, 2000.

DOBBELAERE S, CROONENBORGH S 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.

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

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

DOURADO NETO, D. POWLSON, D.; ABU BAKAR, R.; BACCHI, O.O.S.; BASANTA, M.V.; CONG, P.; KEERTHISINGUE, G.; ISMAILI, M.; RAHMAN, S.M.; REICHARDT, K.; SAFWAT, M.S.A.; SANGAKKARA, R.; TIMM, L.C.; WANG, J.Y.; ZAGAL, E.; VAN KESSEL, C. Multiseason recoveries of organic and inorganic nitrogen-15 in tropical cropping systems. **Soil Science Society of America Journal**. v. 74, n° 1, p. 139-152, 2010.

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. Sistemas de Produção. **Informações Técnicas para Trigo e Triticale - Safra 2012**. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/trigo/informacoes_tecnicas_trigo_triticales_safra_2012.pdf>. Acesso em 04/06/2015.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Sistemas de Produção. **Cultivo de café orgânico**. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cafe/CafeOrganico_2ed/anexo03.htm>. Acesso em 04/06/2015.

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.

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.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO Regional Office for Asia and the Pacific. **Crop monitoring for improved food security**. 2014 219 p.

FAOSTAT. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/S> Acesso em 29/05/2015

FARINELLI, R. & BORGES, L. Produtividade e eficiência agrônômica 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 19/05/2015.

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

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, 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, 2010.

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, nº. 7. p. 921-923, 1994.

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.

GROSS, A. **ABONOS**: guía práctico de la fertilización. 4 ed. Madrid: Mundi-Prensa, 1976. 447 p.

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.

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.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Agrometeorologia**. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1070.htm>>. Acesso em 30/05/2015.

IPNI (International plant nutrition institute). Disponível em: <<http://brasil.ipni.net/article/BRS-3132>> Acesso em: 01/06/2015.

IPNI (International plant nutrition institute). Disponível em: <<http://brasil.ipni.net/article/BRS-3133#resultados>> Acesso em: 01/06/2015.

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

JOE, M.M.; KARTHIKEYAN, B. CHAUHAN, P.S.; SHAGOL, C.; ISLAM M.R.; DEIVEEKASUNDARAM, M.; SA, T. Survival of *Azospirillum brasilense* flocculated cells in alginate and its inoculation effect on growth and yield of maize under water deficit conditions. **European Journal of Soil Biology**. V. 50, p.198-206, 2012.

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.

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.

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

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.

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

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

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.

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.

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

NAKAMURA, K.; HARTE, 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.

NOVAES, R.F. e SYMYTY, T.J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG: UFV, 399p. 1999.

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 evolution of 20 years worldwide Field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p. 1591-1601, 1994.

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.

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 Agrônômico do Paraná, 38p. (Circular, 76) 1992.

PAVINATO, P. S.; CERETTA, C. A.; GIROTTI, E.; LOPES MOREIRA, I. C. Nitrogenio e potassio em milho irrigado: analise tecnica e economica da fertilizacao. **Ciencia Rural** 38.2 (2008): 358+. *Academic OneFile*. Web. 20 Aug. 2013.

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, 2013.

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.

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 Agrônômico de Campinas, 111p., 2000.

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.

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 optical sensor variable 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. Gluconic acid 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.

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.

SANGOI, L.; SCHMITT, A.; SILVA, P.R.F.; VARGAS, V.P.; ZOLDAN, S.R.; VIERA, J. SOUZA, C.A.; PICOLI JUNIOR, G.J.; BIANCHET, P. Perfilhamento como característica mitigadora dos prejuízos ocasionados ao milho pela desfolha do colmo principal. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.47 n.11, 2012.

SANGOI, L.; SCHWEITZER, C.; SCHMITT, A.; PICOLI JUNIOR, G.J.; VARGAS, V.P.; VIEIRA, J.; SIEGA, E.; CARNIEL, G. Perfilhamento e prolificidade como características estabilizadoras do rendimento de grãos do milho em diferentes densidades. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.9, p.254-265, 2010.

SANGOI, L.; SCHWEITZER, C.; SILVA, P.R.F. da; SCHMITT, A.; VARGAS, V.P.; CASA, R.T.; SOUZA, C.A. de. Perfilhamento, área foliar e produtividade do milho sob diferentes arranjos espaciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.710-717, 2011a.

SANGOI, L.; VARGAS, V.P.; SCHMITT, A.; PLETSCH, A.J.; VIEIRA, J.; SALDANHA, A.; SIEGA, E.; CARNIEL, G.; MENGARDA, R.T.; PICOLI JUNIOR, G.J. Disponibilidade de nitrogênio, sobrevivência e contribuição dos perfilhos ao rendimento de grãos do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.35, p.183-191, 2011b.

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.

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, 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 e 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.

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.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre, Artmed, 2009. 819p.

TAMAS, I.A. **Hormonal regulacion of apical dominance**. Biology Department, Ithaca College, USA, 1995.

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.

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

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

VIEIRA, R.C.B.; BAYER, C.; FONTOURA, S.M.V.; ANGHINONI, I.; ERNANI, P.R.; MORAES, R.P. Critérios de calagem e teores críticos de fósforo e potássio em latossolos sob plantio direto no centro-sul do Paraná. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, V. 37, p. 188-198, 2013.

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.

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.

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

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.**

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.