



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL**  
**CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL**  
**CURSO DE AGRONOMIA**

**CRISTIANO LUCAS GRESSANA**

**EFEITOS DE DOSES CRESCENTES DE NÍQUEL ( $\text{Ni}^{2+}$ ) SOBRE A INOCULAÇÃO**  
**DE *Azospirillum brasilense* NA CULTURA DO MILHO (*Zea mays* L.)**

**LARANJEIRAS DO SUL**

**2018**

**CRISTIANO LUCAS GRESSANA**

**EFEITOS DE DOSES CRESCENTES DE NÍQUEL ( $\text{Ni}^{2+}$ ) SOBRE A INOCULAÇÃO  
DE *Azospirillum brasilense* NA CULTURA DO MILHO (*Zea mays* L.)**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação  
apresentado como requisito para obtenção de grau de  
Bacharel em Agronomia da Universidade Federal da  
Fronteira Sul.

Orientador: Prof. Dr. José Francisco Grillo

**LARANJEIRAS DO SUL**

**2018**

## **PROGRAD/DBIB - Divisão de Bibliotecas**

GRESSANA, CRISTIANO LUCAS  
EFEITOS DE DOSES CRESCENTES DE NÍQUEL (Ni<sup>2+</sup>) SOBRE A  
INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* NA CULTURA DO  
MILHO (*Zea mays* L.)/ CRISTIANO LUCAS GRESSANA. -- 2018.  
25 f.

Orientador: JOSÉ FRANCISCO GRILLO.  
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -  
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de  
aGRONOMIA , Laranjeiras do Sul, PR, 2018.

1. PRODUÇÃO E ADUBAÇÃO DE SOLO PARA O MILHO. 2.  
CARACTERÍSTICAS DA BACTÉRIA *Azospirillum brasilense*. 3.  
RELAÇÃO DO NÍQUEL COM PRODUTIVIDADE VEGETAL E ADUBAÇÃO  
NO SOLO. I. GRILLO, JOSÉ FRANCISCO, orient. II.  
Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

CRISTIANO LUCAS GRESSANA

EFEITOS DE DOSES CRESCENTES DE NÍQUEL ( $\text{Ni}^{2+}$ ) SOBRE A INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* NA CULTURA DO MILHO (*Zea mays* L.)

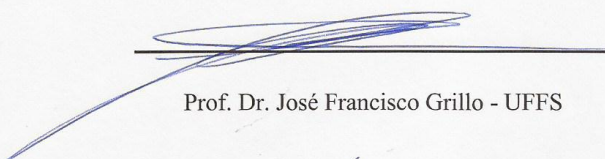
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. José Francisco Grillo

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

06/07/2018.

BANCA EXAMINADORA:



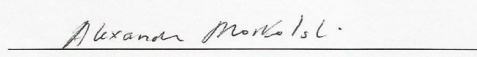
---

Prof. Dr. José Francisco Grillo - UFFS



---

Prof. Dr. Gilmar Franzener - UFFS



---

Prof. MSc. Alexandre Monkolski - UFFS

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço à Deus pela vida, à minha mãe Marizete Ana Biava Gressana e ao meu pai Gerson Francisco Gressana, e à minha família pela ajuda e apoio.

Agradeço aos meus colegas Juliana Nascimento, Eguinaldo José Rosa, Claudiney Cordeiro Soligo, João Igor Zampoli, Jean Marcos Viau, Marcos Vinícios Basso e Isaias Leal, pela ajuda e apoio.

Agradeço ao meu orientador professor Dr. José Francisco Grillo pela paciência e ao tempo dedicado a me orientar.

Agradeço à todos aqueles professores, técnicos e demais funcionários, que, de uma forma ou de outra, contribuíram não somente para a formação de uma engenheiro agrônomo, mas de um profissional ético e responsável.

## RESUMO

As rizobactérias são promotoras de crescimento das plantas. A inoculação de sementes de plantas cultivadas com rizobactérias pode se tornar uma excelente alternativa para diminuir os riscos ambientais causados pela utilização inadequada de insumos agrícolas e, até mesmo, aumentar a produtividade das culturas. Os Micronutrientes são utilizados pelas plantas em pequenas quantidades. Sua falta, no entanto, pode acarretar grandes perdas na produtividade. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação do *Azospirillum brasilense* associadas à aplicação de doses crescentes de Níquel ( $\text{Ni}^{2+}$ ) na cultura do milho (variedade Pioneer 30F53YH). O experimento foi realizado em estufa na Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, *Campus* de Laranjeiras do Sul-Pr. O solo utilizado como substrato foi um LATOSSOLO VERMELHO Distrófico e o delineamento experimental adotado foi um esquema fatorial de 2 x 4 na forma de Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), sendo, 2 formas de inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* (com e sem inoculação) combinados com 4 doses crescentes de Níquel ( $\text{Ni}^{2+}$ ) na forma de Sulfato de Níquel ( $\text{NiSO}_4$ ) incorporado ao solo, totalizando 8 tratamentos. Foram utilizadas 3 repetições tratamento<sup>-1</sup>, totalizando 24 unidades experimentais (vasos). Cada unidade experimental foi representada por um vaso plástico de polietileno com capacidade de 20 litros, preenchidos com solo. Aos 55 dias após a emergência (DAE), de cada tratamento testado foram coletadas 6 plantas de milho (3 vasos tratamento<sup>-1</sup>) os quais representem a média do mesmo, para a determinação das seguintes variáveis: altura da planta (AP), diâmetro do colmo (DC), massa seca foliar (MSF), massa seca do colmo (MSC), massa seca total aérea (MSTA) e clorofila foliar (CLOR). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott- Knott ao de nível de 5% de significância. Estatisticamente não houve diferença significativa entre os tratamentos testados para as variáveis: AP, DC, MSF, MSC, MSTa e CLOR. Não foi constatado nenhum tipo de interação/sinergismo entre a rizobactéria *Azospirillum brasilense* e o micronutriente Ni para as diferentes variáveis consideradas, no tocante a cultura do milho.

Palavras-chave: Adubação. Fixação biológica de Nitrogênio. Bactéria diazotrófica. Micronutriente.

## ABSTRACT

Rhizobacteria are plant growth promoters. Inoculation of plant seeds cultivated with rhizobacteria can become an excellent alternative to reduce the environmental risks caused by inadequate use of agricultural inputs and even increase crop productivity. Micronutrients are used by plants in small quantities. Their lack, however, can lead to large losses in productivity. The objective of this work was to evaluate the effect of the inoculation of *Azospirillum brasilense* associated to the application of increasing doses of Nickel ( $\text{Ni}^{2+}$ ) in corn (Pioneer 30F53YH variety). The experiment was carried out in a greenhouse at the Federal University of Southern Border - UFFS, Laranjeiras do Sul-Pr Campus. The soil used as substrate was a DISTROFIC RED LATOSOLO and the experimental design adopted was a 2 x 4 factorial scheme in the form of Fully Dilated Design (DIC), being 2 forms of inoculation of corn seeds with *Azospirillum brasilense* (with and without inoculation) combined with 4 increasing doses of Nickel ( $\text{Ni}^{2+}$ ) in the form of Nickel Sulphate ( $\text{NiSO}_4$ ) incorporated into the soil, totaling 8 treatments. Three treatment-1 replicates were used, totaling 24 experimental units (vessels). Each experimental unit was represented by a polyethylene plastic vessel with capacity of 20 liters, filled with soil. At 55 days after emergence (DAE), 6 maize plants (3 treatment-1 pots) were collected from each treatment tested, which represent the mean of the treatment, to determine the following variables: plant height (AP), diameter leaf dry mass (MSF), stem dry mass (MSC), total aerial dry mass (MSTA) and leaf chlorophyll (CLOR). The data were submitted to analysis of variance (ANOVA) and the means were compared by the Scott-Knott test at the 5% level of significance. Statistically there was no significant difference between the treatments tested for the variables: AP, DC, MSF, MSC, MSTA and CLOR. No interaction or synergism was observed between the rhizobacterium *Azospirillum brasilense* and the Ni micronutrient for the different variables considered, in relation to the maize crop.

**Keywords:** Fertilization. Biological fixation of Nitrogen. Diazotrophic bacteria. Micronutrient.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Atributos químicos e físicos do solo analisado (profundidade de amostragem de 0-20 cm) da área experimental na UFFS (Laranjeiras do Sul, Paraná), anteriormente ao início do período experimental.....16

**Tabela 2** - Valores médios para as variáveis massa seca foliar (MSF), massa seca do colmo (MSC) e massa seca total (MST).....18

**Tabela 3** - Valores médios das variáveis altura de planta (AP), diâmetro do colmo (DC) e teor de clorofila foliar (CLOR).....19



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	8
1.1	OBJETIVOS .....	8
1.1.1	Objetivo geral.....	8
1.1.2	Objetivos específicos.....	9
1.1.3	Problema.....	9
1.1.4	Hipótese .....	9
1.2	JUSTIFICATIVA .....	9
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	10
2.1	PRODUÇÃO E ADUBAÇÃO DE SOLO PARA O MILHO .....	10
2.2	CARACTERÍSTICAS DA BACTÉRIA <i>Azospirillum brasilense</i> .....	11
2.3	RELAÇÃO DO NÍQUEL COM PRODUTIVIDADE VEGETAL E ADUBAÇÃO NO SOLO .....	14
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	15
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	18
4.1	MASSA SECA FOLIAR, MASSA SECA DO COLMO E MASSA SECA TOTAL...	18
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	20
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	21

## 1 INTRODUÇÃO

A grande importância da fixação biológica de N em poáceas é a maior facilidade de aproveitamento de água das mesmas em relação às fabáceas, devido a maior eficiência fotossintética. Estas apresentam sistema radicular fasciculado, tendo vantagens sobre o sistema pivotante das fabáceas, para extrair água e nutrientes do solo (CAMPOS et al., 2000).

O incremento do sistema radicial em plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* proporciona maior longevidade aos tecidos verdes, em consequência ocorre maior período de atividade fotossintética, o que resulta em quantidades maiores de fotoassimilados para os grãos ou para a própria assimilação de N<sub>2</sub>, em relação às plantas não inoculadas (DIDONET et al., 2000). A primeira constatação da essencialidade do Ni para os seres vivos foi realizada por Dixon et al. (1975), quando demonstraram que a enzima urease apresentava dois átomos de Ni na sua composição estrutural. A essencialidade do Ni nas plantas superiores foi evidenciada por Eskew, Welch e Cary (1983), cultivando soja (*Glycine max*) em solução nutritiva, a qual apresentou necrose na extremidade dos folíolos devido ao acúmulo de ureia em concentrações tóxicas, consequência da baixa atividade da urease decorrente da deficiência de Ni. Trabalhos posteriores de Eskew, Welch e Norvell (1984) e Brown, Welch e Cary (1987), com feijão (*Vigna unguiculata* L.) e cevada (*Hordeum vulgare* L.), confirmaram a essencialidade do Ni e ele foi inserido na lista de micronutrientes após os pesquisadores verificaram que as sementes das plantas de cevada cultivadas em solução nutritiva com ausência de Ni, após três gerações, eram inviáveis e não germinavam adequadamente. Posteriormente, outras funções do Ni nas plantas também foram constatadas: na produção de etileno (SMITH E WOOD-BURN, 1984), na resistência de plantas a doenças (GRAHAM, WELCH, WALKER, 1985), na germinação de sementes (BROWN; WELCH; CARY, 1987), como componente estrutural da enzima hidrogenase (EVANS et al., 1987) e na conservação pós-colheita de frutos (ZHENG et al., 2006).

### 1.1 OBJETIVOS

#### 1.1.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do níquel sobre a cultura do milho, na presença e ausência da inoculação com bactérias *Azospirillum brasilense*.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar a influência e o efeito de diferentes doses de níquel sobre a fixação biológica de nitrogênio na cultura do milho, na presença e ausência de inoculação com bactéria *Azospirillum brasilense*;
- b) Determinar a melhor dose de níquel para a cultura do milho com base em sua curva de resposta e na ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense*;
- c) Determinar a concentração ideal de níquel para a cultura do milho na presença de inoculação com *Azospirillum brasilense*;

### 1.1.3 Problema

A falta de informações sobre a essencialidade do micronutriente níquel quando associado a bactérias diazotróficas.

### 1.1.4 Hipótese

Espera-se que com fornecimento da dose adequada de Níquel, e o incremento da inoculação com *Azospirillum brasilense*, na cultura do milho, apresentem resultados significativos no aumento da produtividade, bem como dos atributos que serão avaliados, através da fixação biológica de nitrogênio.

## 1.2 JUSTIFICATIVA

Apesar de haver diversos estudos com níquel (Ni) em nutrição mineral de plantas pelo mundo, no Brasil são escassos os trabalhos com Ni em solos agrícolas, sendo que a maioria desses são estudos sobre a adsorção do elemento no solo (LEVY, 2013). Segundo Mellis et al. (2004), este elemento apresenta grande capacidade adsortiva em solos com altos teores de óxidos e matéria orgânica. Além disso, ainda segundo os mesmos autores, o pH influencia

diretamente a disponibilidade de Ni para as plantas, sendo que essa disponibilidade é baixa a partir de pH 5,5.

Apesar de o micronutriente estar presente no mercado e na legislação brasileira de fertilizantes, as informações sobre as doses, as formas de aplicação e a respostas das plantas à sua aplicação ainda são insuficientes para a recomendação do uso agrícola de Ni. Sabe-se que altos teores de Ni nos tecidos vegetais podem inibir a fotossíntese e a respiração (LEVY, 2013)

Os sintomas de efeito tóxico podem ser relacionados a lesões nos tecidos, retardamento do crescimento e cloroses. O Ni pode ser acumulado nas folhas e grãos (REIS, 2002). Kabata-Pendias e Pendias (2001) relataram teores de Ni de 0,22 a 0,34 mg kg<sup>-1</sup> em grãos de milho cultivados em solo não contaminados, e de 1,6 a 5,2 mg kg<sup>-1</sup> em solos tratados com biossólido.

As fontes utilizadas para a aplicação de Ni podem variar entre sais, como o sulfato, nitrato e cloreto, até formulações com EDTA, como quelatos. No Brasil, a Instrução Normativa 05, de 23 de fevereiro de 2007, que controla o registro de fertilizantes e corretivos minerais apresenta uma lista de produtos para aplicação via solo ou foliar e estabelece a concentração mínima para registro. A quantidade mínima para registro de produtos de aplicação via foliar, solo ou fertirrigação, é de 0,005% e 0,01% se o fertilizante for exclusivamente fonte de micronutrientes. Produtos para aplicação via tratamento de sementes devem conter ao menos um micronutriente, sem concentração mínima (BRASIL, 2007).

Segundo Levy (2013), as formas mais comuns de aplicação de Ni nas culturas são: tratamento de sementes, introdução via formulações NPK e pulverizações foliares. Porém, não há disponibilidade de informações sobre doses e período ideal para aplicação. De acordo com Malavolta (2006) pode-se pensar em doses de Níquel da mesma ordem de grandeza que as de Cobalto.

Considerando que o micronutriente Ni faz parte da nutrição da cultura do milho, busca-se com este trabalho estabelecer doses de Níquel que resultem melhor rendimento, buscando potencializar a eficiência da adubação através da inoculação com *Azopirillum brasilense*, visando incrementar a produtividade e reduzindo os custos na adubação.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 PRODUÇÃO E ADUBAÇÃO DE SOLO PARA O MILHO**

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta que pertence à família Poaceae. É uma das mais eficientes plantas armazenadoras de energia existentes na natureza e é hoje o cereal mais produzido no mundo. A produção mundial concentra-se basicamente em três grandes produtores: EUA, China e Brasil, sendo que sozinhos esses países representam 65,62% da produção. O Brasil encontra-se na terceira posição no ranking de produtores. Apesar dessa ampla concentração entre os grandes produtores, o restante do milho produzido no mundo é bem dividido entre os outros países. Para se ter uma ideia, o restante dos 10 maiores produtores de milho representa apenas 13,83% da produção mundial, segundo dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2016).

O estado Paraná destaca-se como o segundo maior produtor de milho do Brasil. O milho é uma cultura de grande importância para a economia paranaense. Em 2012, o Valor Bruto da Produção (VBP) do cereal situou-se em R\$ 6,45 bilhões anuais, o que representou 12% da renda bruta da agropecuária do Paraná. Em comparação com outros grãos, o milho tem se mantido na 2ª colocação, ficando atrás apenas da soja, que lidera o ranking. Em relação à produção total de grãos, o milho respondeu, na média das últimas cinco safras, por 47% da produção paranaense e 9% da safra brasileira de grãos (SEAB/DERAL, 2013).

Entre os fatores de produção de milho, a adubação química é responsável por grande parte dos custos totais, e isto é motivo de preocupação quando se considera que o aumento no preço médio dos fertilizantes no último ano praticamente duplicou (ABDALLA et al., 2008).

Diante deste cenário, é fundamental que o manejo da adubação e nutrição de plantas vise à máxima eficiência na utilização de fertilizantes para reduzir os custos e tornar o sistema sustentável. Assim, devem-se utilizar fontes corretas de fertilizantes, na dose certa, no local correto e na época adequada. Além disso, é imprescindível o conhecimento da dinâmica dos nutrientes no solo e a adoção de práticas complementares, como correção do solo, práticas conservacionistas, plantio direto, entre outras (ABDALLA et al., 2008).

A fixação biológica de Nitrogênio apresenta-se como opção no suprimento deste elemento na cultura de milho, bem como em outras culturas. Caso não seja possível a substituição da totalidade do N, pode-se diminuir substancialmente o uso do elemento e, conseqüentemente, reduzir os custos da lavoura e de energia não renovável (ABDALLA et al., 2008).

## 2.2 CARACTERÍSTICAS DA BACTÉRIA *Azospirillum brasilense*

O *Azospirillum brasilense* é uma bactéria aeróbica, fixadora de N<sub>2</sub>, gram-negativa, espiralada, móvel, com flagelo polar e cílios laterais, que realiza todas as fases do ciclo do N<sub>2</sub>, exceto a nitrificação, e transfere apenas 20% do N<sub>2</sub> fixado para a planta. Esta última característica é um dos fatores limitantes para o desenvolvimento de produtos, embora não anule a utilidade da tecnologia (ARAÚJO, 2008).

Contudo, ao contrário das bactérias simbióticas, bactérias associativas excretam somente uma parte do nitrogênio fixado diretamente para a planta associada. A mineralização das bactérias pode contribuir com aportes adicionais de nitrogênio para as plantas, contudo, é importante salientar que o processo de fixação biológica por essas bactérias consegue suprir apenas parcialmente as necessidades das plantas (HUNGRIA, 2011).

As características benéficas do *Azospirillum brasilense* como inoculante são: a bactéria é endofítica, ou seja, penetra na raiz das plantas; apresenta antagonismo a agentes patogênicos; associa-se com várias gramíneas (milho, trigo, sorgo, arroz, e outras) e com não-gramíneas (morango, tabaco, café e outras); produz fito-hormônios; não é muito sensível às variações de temperatura e ocorre em todos os tipos de solo e clima (ARAÚJO, 2008).

Um dos fatores que se deve levar em consideração na seleção de estirpes para inoculação é a sua capacidade de competir com aquelas já existentes no solo, pois, embora seja uma vantagem o fato da bactéria ser pouco exigente em relação às condições de solo para fixar N<sub>2</sub>, isso torna mais difícil a introdução de estirpes de bactérias com maior capacidade de fixação, devido à competição (ARAÚJO, 2008). Para Silva et al. (2007) a capacidade competitiva das bactérias diazotróficas com outras é alta somente quando as condições são de baixa disponibilidade de N<sub>2</sub> no ambiente.

Segundo Didonet et al. (2000), são muitas as evidências de que a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* seja responsável pelo aumento da taxa de acúmulo de matéria seca, principalmente na presença de elevadas dosagens de nitrogênio, o que parece estar relacionado com o aumento da atividade das enzimas fotossintéticas e de assimilação de nitrogênio.

A grande importância da fixação biológica de N em poáceas é a maior facilidade de aproveitamento de água das mesmas em relação às fabáceas, devido a maior eficiência fotossintética. Estas apresentam sistema radicular fasciculado, tendo vantagens sobre o sistema pivotante das fabáceas, para extrair água e nutrientes do solo (CAMPOS et al., 2000).

O incremento do sistema radicular em plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* proporciona maior longevidade aos tecidos verdes, em consequência ocorre maior período de atividade fotossintética, o que resulta em quantidades maiores de fotoassimilados para os

grãos ou para a própria assimilação de  $N_2$ , em relação às plantas não inoculadas (DIDONET et al., 2000).

A inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* pode aumentar a produtividade do milho safrinha em até 50%, além de reduzir o custo de produção em 20%. O inoculante contém alta concentração de bactérias fixadoras de nitrogênio destinadas à cultura do milho. O produto é formulado com soluções estabilizantes, proporcionando alta aderência do produto nas sementes. A inoculação pode ser feita via semente ou no sulco de plantio. A inoculação no sulco de plantio deve ser realizada com equipamentos de pulverização recomendado para este fim, de forma que a inoculação seja simultânea com o plantio do milho (AGROFERTIL, 2011).

A inoculação modifica a morfologia do sistema radicular, incrementa além do número de radículas, o diâmetro das raízes laterais e adventícias, provavelmente devido à produção, pela bactéria, de substâncias promotoras do crescimento, como auxinas, giberelinas e citocininas, e não somente pela Fixação Biológica de Nitrogênio. Essa produção de fitormônios interfere no crescimento das plantas e altera a morfologia das raízes de modo que possibilite maior volume de exploração do solo (CAVALLET et al., 2000)

As alterações morfológicas proporcionam a alongação da zona para formação de raízes, e promovem dessa maneira, aumento total do tamanho da raiz e da planta e maior desenvolvimento (SILVA et al., 2004)

Atualmente, já existe um volume expressivo de dados que permitem que se recomende, com grande margem de segurança, o desenvolvimento de pesquisas tanto em relação à eficiência agrônômica como em relação à tecnologia de produção dos inoculantes à base de *Azospirillum brasilense* para milho e trigo (ARAÚJO, 2008).

No caso do milho, a inoculação com a aplicação de apenas  $24 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $N_2$  na semeadura resulta em rendimentos da ordem de  $3.400 \text{ kg ha}^{-1}$ , que são interessantes economicamente no caso de milho safrinha, ou para a agricultura familiar. Com a suplementação adicional de  $30 \text{ kg de } N_2 \text{ ha}^{-1}$  no florescimento é possível alcançar rendimentos da ordem de  $7.000 \text{ kg ha}^{-1}$  pela inoculação (HUNGRIA, 2011).

Estima-se que a economia resultante pela inoculação com *Azospirillum brasilense* possa ser da ordem de 2 bilhões de dólares ano<sup>-1</sup>. Desse modo, os benefícios da inoculação com *Azospirillum brasilense*, vão além da fixação biológica do nitrogênio, razão pela qual as bactérias são classificadas como promotoras do crescimento de plantas. Além disso, representa uma estratégia viável economicamente além dos benefícios ambientais associados à redução no uso de fertilizantes (HUNGRIA, 2011).

### 2.3 RELAÇÃO DO NÍQUEL COM PRODUTIVIDADE VEGETAL E ADUBAÇÃO NO SOLO

O metal de transição níquel (Ni) é o vigésimo terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre, com teor médio de 20 mg kg<sup>-1</sup> de solo . A concentração total de Ni nos solos varia de 4 a 2.000 mg kg<sup>-1</sup>, com valor médio de 29 mg kg<sup>-1</sup> (KABATA-PENDIAS E PENDIAS, 2011). Levantamentos dos teores totais em solos brasileiros ainda são escassos, sendo quantificados valores variando de < 0,014 a 1.162,52 mg kg<sup>-1</sup> de Ni (ROVERS; CAMARGO; VALADARES, 1983).

O estado no qual os estudos estão mais adiantados em relação a disponibilidade de Ni é o Paraná, onde amostras do horizonte B de toda extensão do estado foram analisadas, constatando-se teores de < 0,013 a 0,19 e < 0,1 a 0,54 mg dm<sup>-3</sup> em ácido dietilenopentacético (DTPA) e Mehlich-1, respectivamente (RODAK, 2014). Amostras superficiais de solos naturais e agrícolas em áreas pontuais do Paraná também variaram de < 0,013 a 0,74 e < 0,1 a 1,33 mg dm<sup>-3</sup> em DTPA e Mehlich-1, respectivamente (RODAK, 2014). Ressalta-se que os maiores teores, para ambos os extratores, ocorreram em solos derivados de derrames de rochas basálticas, que são rochas ultrabásicas ricas em Ni, evidenciando, mais uma vez, a relação direta com o material de origem.

A primeira constatação da essencialidade do Ni para os seres vivos foi realizada por Dixon et al. (1975), quando demonstraram que a enzima urease apresentava dois átomos de Ni na sua composição estrutural. A essencialidade do Ni nas plantas superiores foi evidenciada por Eskew, Welch e Cary (1983), cultivando soja (*Glycine max*) em solução nutritiva, a qual apresentou necrose na extremidade dos folíolos devido ao acúmulo de uréia em concentrações tóxicas, consequência da baixa atividade da urease decorrente da deficiência de Ni. Posteriormente, outras funções do Ni nas plantas também foram constatadas: na produção de etileno (SMITH E WOOD-BURN, 1984), na resistência de plantas a doenças (GRAHAM, WELCH, WALKER, 1985), na germinação de sementes (BROWN; WELCH; CARY, 1987), como componente estrutural da enzima hidrogenase (EVANS et al., 1987) e na conservação pós-colheita de frutos (ZHENG et al., 2006).

O Ni é absorvido pelas plantas preferencialmente como cátion divalente (Ni<sup>2+</sup>), também sendo absorvido na forma de quelatos com compostos orgânicos (YUSUF et al., 2011). As plantas absorvem somente uma pequena proporção de níquel proveniente do solo, mas este micronutriente deve receber uma atenção especial, isso porque a sua mobilidade na planta é alta quando comparada a de outros metais (GERENDÁS; SATTELMACHER, 1999).



A forma e o processo de absorção predominante depende dos teores de Ni no solo e, sobretudo, do efeito do pH sobre sua disponibilidade. Por exemplo, plantas de *Lathyrus sativus* L. absorveram maior quantidade de Ni até pH 5,0, e a medida que os valores de pH foram aumentando ocorreu redução de absorção, principalmente com valores maiores ou iguais a 8,0 (PANDAA et al., 2007). Teores adequados para o suprimento das plantas variam de 0,01 a 10 mg kg<sup>-1</sup> (GERENDÁS; SATTELMACHER, 1999; BROWN; WELCH; CARY, 1987).

O Ni foi inserido da legislação brasileira de fertilizantes na Instrução Normativa N. 05, de 23 de fevereiro de 2007 (MAPA, 2016) e os estudos a respeito de sua exigência pelas culturas em condições de campo e forma de utilização na agricultura se encontram em fase inicial. A fonte de Ni mais empregada e estudada na agricultura é o sulfato de níquel (NiSO<sub>4</sub> · 6H<sub>2</sub>O), entretanto, insumos como os termofosfatos não são considerados fontes, embora contenham quantidade significativa desse micronutriente, com teores médios de até 330 mg kg<sup>-1</sup> (GABE, 1998).

Brown, Welch e Cary (1987) consideram o Ni um micronutriente essencial em certas espécies vegetais, especialmente quando cultivadas com ureia, pois é parte da enzima urease (DIXON et al., 1975). A urease (urea amidohidroxilase) é uma metaloenzima que catalisa a hidrólise da ureia para formar NH<sub>3</sub> e CO<sub>2</sub> (DIXON et al., 1975). É encontrada em vários organismos, incluindo plantas, fungos e bactérias (HIRAYAMA et al., 2002). A função principal da uréase é permitir aos organismos o uso da uréia gerada externa ou internamente como fonte de N (MOBLEY E HAUSINGER, 1989; MOBLEY; ISLAND; HAUSINGER, 1995; ANDREWS; BLAKELEY; ZERNER, 1984; TEZOTTO et al., 2012). Nas plantas, uma quantidade significativa do fluxo do N ocorre através da ureia (47% N), o qual é reciclado somente pela ação da urease (POLLACCO E HOLLAND, 1993).

### 3 METODOLOGIA

O experimento foi realizado em estufa na Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, *Campus* de Laranjeiras do Sul-PR, localizado na rodovia BR-158, Km 405, no período entre 18/04/2018 á 12/06/2018.

O solo utilizado como substrato no experimento foi um LATOSSOLO VERMELHO Distrófico. A adubação de base (semeadura) foi realizada com base nos resultados da análise química do solo, segundo (IAPAR, 2003).

**Tabela 1** - Atributos químicos e físicos do solo analisado (profundidade de amostragem de 0-20 cm) da área experimental na UFFS (Laranjeiras do Sul, Paraná), anteriormente ao início do período experimental.

pH CaCl <sub>2</sub>	4,40
P – Mehlich (mg dm <sup>-3</sup> )	2,40
K <sup>+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,08
Mg <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,96
Ca <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,48
Al <sup>3+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,01
H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	10,45
SB (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	2,52
Matéria Orgânica (g dm <sup>-3</sup> )	33,51
CTC (pH 7,0)	12,97
V%	19,43
Fração Argila (g kg <sup>-1</sup> )	490
Fração Silte (g kg <sup>-1</sup> )	260
Fração Areia (g kg <sup>-1</sup> )	250
Classe Textural	Argilosa

\*Resultados da análise química e física do solo coletado na área experimental.

O delineamento experimental adotado foi um esquema fatorial de 2 x 4 na forma de Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), sendo, 2 formas de inoculação das sementes de milho com *Azopirillum brasilense* (com e sem inoculação) combinados com 4 doses crescentes de Níquel (Ni<sup>2+</sup>) na forma de Sulfato de Níquel (NiSO<sub>4</sub>) incorporado ao solo, totalizando 8 tratamentos. Foram utilizadas 3 repetições tratamento<sup>-1</sup>, totalizando 24 unidades experimentais (vasos). Cada unidade experimental foi representada por um vaso plástico de polietileno com capacidade de 20 litros, preenchidos com solo.

Os tratamentos testados foram:

- T1: Testemunha (sem inoculação de *Azopirillum brasilense* nas sementes de milho e com 0 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>)
- T2: Sem inoculação de *Azopirillum brasilense* nas sementes de milho e com 0,5 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>.
- T3: Sem inoculação de *Azopirillum brasilense* nas sementes de milho e com 1 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>.
- T4: Sem inoculação de *Azopirillum brasilense* nas sementes de milho e com 2 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>.
- T5: Com inoculação de *Azopirillum brasilense* nas sementes de milho e com 0 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>.

· T6: Com inoculação de *Azopirillum brasilense* nas sementes de milho e com 0,5 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>.

· T7: Com inoculação de *Azopirillum brasilense* nas sementes de milho e com 1 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>.

· T8: Com inoculação de *Azopirillum brasilense* nas sementes de milho e com 2 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>.

A semeadura do milho foi realizada no dia 18/04/2018, onde foi utilizada a variedade Pioneer 30F53YH, indicada para a região de realização do experimento. De acordo com os tratamentos propostos, as sementes de milho foram previamente inoculadas (momentos antes da semeadura à sombra) com *Azopirillum brasilense*, na dosagem de 0,125 L / 25 kg de sementes. Esta recomendação está de acordo com Zucareli et al.(2011). Inicialmente foram semeadas 5 sementes viáveis vaso<sup>-1</sup> (unidade experimental). Sete dias após a emergência (DAE) foi realizado o desbaste com auxílio de uma tesoura deixando-se apenas 2 plantas uniformes vaso<sup>-1</sup>. Os vasos foram irrigados de forma a garantir a unidade do solo em torno de 70% de sua capacidade de campo (C.C.).

Tendo como base os resultados da análise de solo, foram realizados os cálculos de adubação de base e cobertura, de acordo com as recomendações do Iapar (2003) para a cultura do milho.

A adubação nitrogenada em cobertura foi realizada utilizando-se a dose proporcional a 120 kg ha<sup>-1</sup> de N (IAPAR, 2003) na forma de sulfato de amônio (21% de N e 24% de S), parcelada em 2 aplicações (60 + 60 kg ha<sup>-1</sup> de N), ou seja, aos 22 e 35 DAE.

Durante o período experimental foram realizados, todos os tratos culturais convencionais.

Aos 55 dias após a emergência (DAE), de cada tratamento testado foram coletadas 6 plantas de milho (3 vasos/unidades experimentais) os quais representem a média do mesmo, para a determinação das seguintes variáveis: altura da planta (AP), diâmetro do colmo (DC), massa seca foliar (MSF), massa seca do colmo (MSC), massa seca total aérea (MSTA) e clorofila foliar (CLOR).

Para medir altura de plantas foi utilizada uma régua, de forma a medir a planta do colo até a ponta da última folha. O diâmetro do colmo foi medido com paquímetro digital. Para as variáveis MSF, MSC foi utilizado o método da estufa á 65 °C até atingir peso constante e posterior pesagem em balança analítica. Para quantificar a variável clorofila foliar, foi utilizado o equipamento Clorofilog.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância, com auxílio do programa SISVAR (FERREIRA, 2000).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 MASSA SECA FOLIAR, MASSA SECA DO COLMO E MASSA SECA TOTAL

Na Tabela 2 estão contidos as médias de MSF, MSC e MSTA. Estatisticamente não houve diferença significativa entre os tratamentos testados para as variáveis acima.

**Tabela 2** - Valores médios para as variáveis massa seca foliar (MSF), massa seca do colmo (MSC) e massa seca total aérea (MSTA)

TRATAMENTO	MSF	MSC	MSTA
		<b>g vaso<sup>-1</sup></b>	
<b>T1</b>	0,1297 <sup>ns</sup>	0,0332 <sup>ns</sup>	0,1630 <sup>ns</sup>
<b>T2</b>	0,1160	0,0289	0,1449
<b>T3</b>	0,1234	0,0289	0,1524
<b>T4</b>	0,1339	0,0331	0,1670
<b>T5</b>	0,1223	0,0286	0,1509
<b>T6</b>	0,1286	0,0311	0,1597
<b>T7</b>	0,1203	0,0224	0,1427
<b>T8</b>	0,1320	0,0292	0,1613
<b>CV(%)</b>	<b>17,12</b>	<b>20,55</b>	<b>17,16</b>

**Fonte:** Elaborado pelo autor

Notas: \* ns: não significativo pelo Teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância.

\*\* CV%: Coeficiente de Variação.

**Legenda:** T1: Testemunha (sem inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 0 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>), T2: Sem inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 0,5 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, T3: Sem inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 1 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, T4: Sem inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 2 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, T5: Com inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 0 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, T6: Com inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 0,5 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, T7: Com inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 1 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, T8: Com inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 2 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>.

Na Tabela 3 observamos que para as variáveis altura de planta (AP), diâmetro do colmo (DC) e clorofila foliar (CLOR) não diferiu estatisticamente em função dos tratamentos testados.

**Tabela 3** - Valores médios das variáveis altura de planta (AP), diâmetro do colmo (DC) e teor de clorofila foliar (CLOR)

TRATAMENTO	AP (cm)	DC (mm)	CLOR (SPAD)
T1	25,10 <sup>ns</sup>	2,76 <sup>ns</sup>	29,50 <sup>ns</sup>
T2	23,81	2,82	28,71
T3	23,53	2,76	28,95
T4	26,30	2,91	27,85
T5	23,78	2,60	28,00
T6	24,33	2,74	27,25
T7	22,01	2,75	34,41
T8	25,11	2,81	27,63
<b>CV (%)</b>	<b>10,15</b>	<b>12,36</b>	<b>12,07</b>

Fonte: Elaborado pelo autor.

Notas: \* ns: não significativo pelo Teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância.

\*\* CV%: Coeficiente de Variação.

**Legenda:** T1: Testemunha (sem inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 0 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>), T2: Sem inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 0,5 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, T3: Sem inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 1 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, T4: Sem inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 2 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, T5: Com inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 0 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, T6: Com inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 0,5 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, T7: Com inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 1 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, T8: Com inoculação de *A. brasilense* nas sementes de milho e com 2 kg ha<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>.

As variáveis altura de plantas, diâmetro do colmo e massa seca total não tiveram diferença significativa entre os tratamentos testados (Tabelas 2 e 3). Estes resultados não corroboraram com os obtidos por Picazevicz et al. (2017) onde afirmaram que a inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* na presença ou ausência de N, promoveu incrementos em AP e MSTA. Essas variáveis de crescimento são consideradas determinantes para a produção das plantas, evidenciando os efeitos benéficos dessa espécie microbiana. Marini et al. (2015) e Quadros et al. (2014) também relataram que o *Azospirillum brasilense* causou aumento na matéria seca da parte aérea das plantas de milho. No entanto, Cunha et al. (2014) e Morais et al. (2015) não observaram aumento na altura das plantas ou no diâmetro do caule em resposta à inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense*, corroborando com os resultados obtidos neste trabalho.

A inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* na ausência de N incrementou o crescimento do milho, causando aumento na MSTA. Estes resultados evidenciam a importância da inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*, principalmente quando a adubação nitrogenada não é aplicada. Neste caso, é possível aumentar o crescimento total das plantas em 33% e o conteúdo acumulado de N na parte aérea em 30%. Portanto, o

*Azospirillum brasilense* permitiu reduzir a demanda de plantas por adubação nitrogenada na semeadura, mas não potencializou o efeito da adubação (PICAZEVICZ et al. 2017).

Santini et al. (2018) afirmaram que para os componentes agronômicos altura de plantas (AP), diâmetro do caule (DC) e massa seca total aérea (MSTA) cultivadas em casa de vegetação, nenhuma resposta significativa ( $p > 0,05$ ) foi encontrada em nenhuma das variáveis analisadas, resultados esses que corroboram com os do presente trabalho.

Para a variável clorofila foliar não houve diferença significativa em função dos tratamentos testados (Tabela 3). Em contrapartida Jordão et al. (2010) afirmaram que houve efeito positivo na inoculação das sementes com *Azospirillum brasiliense*. A média da leitura do índice SPAD (Soil Plant Analysis Development), nos tratamentos com a presença da bactéria foi maior que a média dos tratamentos onde não houve inoculação, comprovando a eficiência desse micro-organismo em fixar nitrogênio. Okon e Vanderleyden (1997) salientam que o ganho com a *Azospirillum* spp. vai além da fixação do nitrogênio atmosférico, mas também pelo aumento da superfície de absorção das raízes da planta e, conseqüentemente, no aumento do volume de nitrogênio do solo explorado.

Os maiores índices SPAD obtidos e que está relacionada ao uso da *Azospirillum brasilense*, indica que há uma maior concentração de nitrogênio na folha e, portanto, segundo Sinclair e Horie (1989) uma maior taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>, o que conseqüentemente resultará em uma maior produção de biomassa.

## 5 CONCLUSÃO

- 1) A inoculação das sementes de milho com a rizobactéria *Azospirillum brasilense* combinado com as diferentes doses do micronutriente Ni não proporcionou diferenças significativas nas variáveis analisadas.
- 2) Não foi constatado nenhum tipo de interação/sinergismo entre a rizobactéria *Azospirillum brasilense* e o micronutriente Ni para as diferentes variáveis consideradas, no tocante a cultura do milho.

## REFERÊNCIAS

- ABDALLA S.R.S; PROCHNOV L.I.; FRANCELLI A.L.: **Simpósio discute como utilizar insumos e recursos para otimizar a produtividade do milho.** IPNI; Informações agronômicas Nº 122 – Junho/2008.
- AGROFERTIL. Inoculante de milho. Lucas do Rio Verde, MT, 6ª edição, 2011.
- ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O.; LENG, E.R. **Modern corn production.** 2.ed. Champaign: A & L Publication, 1982. p 371.
- ANDREWS, R. K.; BLAKELEY, R. L.; ZERNER, B. Urea and urease. **Advances in inorganic biochemistry**, v. 6, p. 245-283, 1984.
- ARAUJO, S. C: **Azospirillum na cultura do milho.** INFORMAÇÕES AGRONÔMICAS Nº 122 – JUNHO/2008.
- BASI, S.: **Associação de Azospirillum brasilense e de nitrogênio em cobertura na cultura de milho.** Guarapuava, 2013.
- BRASIL. **Instrução Normativa n. 5**, de 23 de Fevereiro de 2007. Define e normatiza sobre as especificações e as garantias, as tolerâncias, o registro, a embalagem e a rotulagem dos fertilizantes minerais destinados à agricultura.
- BROWN, P. H.; WELCH, R. M.; CARY, E. E. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. **Plant Physiology**, v. 85, n. 3, p. 801-803, 1987.
- CAVALLET E. C. et al: Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum spp.* **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.1, p.129-132, Campina Grande, PB, DEAg/UFPB, 2000.
- CUNHA, FN; SILVA, NF DA; BASTOS, FJ DE C .; CARVALHO, JJ DE; MOURA, LM DE F .; TEIXEIRA, MB; ROCHA, AC DA; SOUCHIE, EL. Efeito da *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no sudoeste goiano. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.13, p.261-272, 2014.
- DIDONET, A. D.; LIMA, A. S.; CANDATEN, A. A.; RODRIGUES, O. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos em trigo submetidos à inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília**, v. 35, n. 2, p. 401-411, fev. 2000.
- DIXON, N. E.; GAZZOLA, C.; BLAKELEY, R. L.; ZERNER, B. Jack bean urease (EC 3.5.1.5.) a metalloenzyme: simple biological role for nickel. **Journal of the American Chemical Society**, v. 97, n. 14, p. 4131-4133, 1975.
- ESKEW, D. L.; WELCH, R. M.; CARY, E. E. Nickel: an essential micronutrient for legumes and possibly all higher-plants. **Science**, v. 222, n. 4624, p. 621-623, 1983.
- ESKEW, D. L.; WELCH, R. M.; NORVELL, W. A. Nickel in higher plants: further evidence for an essential role. **Plant Physiology**, v. 76, n. 3, p. 691-693, 1984.

EVANS, H. J.; HARKER, A. R.; PAPEN, H.; RUSSELL, S. A.; HANUS, F. J.; ZUBER, M. Physiology, biochemistry and genetics of the uptake hydrogenase in rhizobia. **Annual Review of Microbiology**, v. 41, p. 335-361, 1987.

FERREIRA, D.F. **Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0.** In...45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, Julho de 2000. p. 255-258.

GABE, U. **Teor e disponibilidade para a soja de micronutrientes e elementos potencialmente tóxicos em fertilizantes minerais e calcários.** 1998. 84 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

GERENDAS, J.; SATTELMACHER, B. Influence of Ni supply on growth, urease activity and nitrogen metabolites of *Brassica napus* grown with NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> or urea as N source. **Annals of Botany**, v. 83, p. 65-71, 1999.

GRAHAM, R. D.; WELCH, R. M.; WALKER, C. D. A role for nickel in the resistance of plants to rust. In: AUSTRALIAN AGRONOMY CONFERENCE, 3., 1985, Hobart. **Annals...** Hobart: Australian Society of Agronomy, 1985. 337 p.

HIRAYAMA, C.; SUGIMURA, M.; SAITO, H.; NAKAMURA, M. Purification and properties of uréase from leaf of mulberry. *Morus alba*, **Phytochemistry**, v. 53, p. 325-330, 2002.

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

IAPAR, Sugestão de adubação e calagem para culturas de interesse econômico no Estado do Paraná. Londrina. PR: **Instituto Agrônômico do Paraná.** 2003, 30 p. (Circular, nº 128)

IAPAR. **Sugestão de adubação e calagem para culturas de interesse econômico no estado do Paraná- plantio direto e convencional, culturas perenes, várzeas, pastagens e capineiras.** CIRCULAR Nº 128. Londrina – Paraná. AGOSTO/03.

JORDÃO, L. T. et al. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum braziliense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. In: **Reunião brasileira de fertilidade do solo e nutrição de plantas**, 29. Guarapari, 2010, 1-4 p.

KABATA-PENDIAS, A., PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants.** 3.ed. Florida: CRC PRESS, 2001. 413p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements from soil and plant.** 4. Ed. New York: CRC Press, Taylor and Francis Group, 2011. 576 p.

LEVI C.C.B: **Níquel em soja: doses e formas de aplicação.** Dissertação de mestrado. INSTITUTO AGRONÔMICO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRICULTURA TROPICAL E SUBTROPICAL Campinas, SP, junho 2013.

LOPES, J F: **Produtividade e qualidade do feijão adubado com molibdênio e níquel;** Universidade Federal do Norte-Fluminense Darcy Ribeiro – UNEF; Campos do Goytacazes; RJ; Abril 2013.



MALAVOLTA, E. **Manual de Nutrição Mineral de Plantas**. Editora Agronômica Ceres, 2006. 638p.

MAPA. MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO. **Instrucao Normativa MAPA 5/2007 (D.O.U. 01/03/2007)**. Disponível em: [www.agricultura.gov.br/vegetal/sanidade-vegetal/legislacao](http://www.agricultura.gov.br/vegetal/sanidade-vegetal/legislacao). Acesso em: 12 de setembro de 2016.

MARINI, D; GUIMARÃES, VF; DARTORA, J; LANA, M. DO C; PINTO JÚNIOR, AS. Crescimento e produção de híbridos de milho em resposta à associação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada. **Revista Ceres**, v.62, p.117-123, 2015.

MELLIS, E.V., CRUZ, M.C.P., CASAGRANDE, J.C. **Nickeladsorption by soils in relation to pH, organic matter and iron oxides**. Scientia Agrícola, Piracicaba, v.61, n.2, p.190-195, 2004.

MELLO N.: **Inoculação de *azospirillum brasilense* nas culturas de milho e trigo**. UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO; FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA; Passo Fundo, fev 2012.

MOBLEY, H. L. T.; HAUSINGER, R. P. Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. **Microbiological Reviews**, v. 53, n. 1, p. 85-108, 1989.

MOBLEY, H. L. T.; ISLAND, M. D.; HAUSINGER, R. P. Molecular biology of microbial ureases. **Microbiological Reviews**, v. 59, n. 3, p. 451-480, 1995.

MORAIS, TP DE; BRITO, CH DE; FERREIRA, A. DE S .; LUZ, JMQ. Aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímica do solo em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista Ceres**, v.62, p.507-509, 2015.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **Applied and Environment Microbiology**, Washington, v.6, n°7, p. 366-370, 1997.

PANDAA, G. C.; DASA, S. K.; BANDOPADHYAYB, T. S.; GUHA, A. K. Adsorption of nickel on husk of *Lathyrus sativus*: behavior and binding mechanism. **Colloids Surf B: Biointerfaces**, v. 57, p. 135-142, 2007.

PICAZEVICZ, A. A. C.; KUSDRA, J. F.; MORENO, A. de L. Maize growth in response to *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici*, molybdenum and nitrogen. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, Campina Grande , v. 21, n. 9, p. 623-627, Sept. 2017.

POLACCO J.C.; HOLLAND M.A.:**Roles of urease in plant cells**. International. Review of Cytology, New York, v.145, p 65-103, 1993.

POLLACCO, J. C.; HOLLAND, M. A. Roles of urease in plant cells. **International Review of Cytology**, v. 145, p. 65-103, 1993.

QUADROS, PD DE; ROESCH, LFW; SILVA, PRF DA; VIEIRA, VM; ROEHR, DD; CAMARGO, FA DE O. Desempenho agrônomico em campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum* . **Revista Ceres**, v.61, p.209-218, 2014.

- REIS, T.C. **Distribuição e biodisponibilidade do níquel aplicado ao solo como NiCl<sub>2</sub> bioessólido**. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2002.
- RODAK, B W. **Níquel em solos e na cultura de soja**. 2014. 101 p. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.
- ROVERS, H.; CAMARGO, O.; VALADARES, J.M.A.S. Níquel total e solúvel em DTPA em solos do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 7, n. 3, p. 217-220, 1983.
- SANTINI, J. M. K. et al . Doses and forms of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize crop. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, Campina Grande , v. 22, n. 6, p. 373-377, June 2018.
- SHIOGA P.S.; GERAGE A.C.; ARAÚJO P.M.; BIANCO R.; CUSTÓDIO A.A.P.: **Avaliação estadual de cultivares de milho safra 2014/2015**. INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ Londrina, 2015.
- SILVA, A. A. O.; FELIPE, T. A.; BACH, E. E. **Ação do *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento das plantas de trigo (variedade IAC-24) e cevada (variedade CEV 95033)**. *Conscientiae Saúde*, Universidade Nove de Julho, São Paulo, v. 3, p. 29-35, 2004.
- SILVA, D. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; SEMINOTI, R. J. J.; VOSS, M. Bactérias diazotróficas nas folhas e colmos de plantas de arroz irrigado (*Oryza sativa* L.) **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 2, p. 181-187 , 2007.
- SINCLAIR, T. R.; HORIE, T. Leaf nitrogen, photosynthesis and crop radiation use efficiency: a review. **Crop Sci**. Madison, v29, p.90-98, 1989.
- TEZOTTO, T : **Metabolismo do Nitrogênio e senescência em razão da aplicação de níquel no cafeeiro arábica**; Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba 2015.
- TEZOTTO, T.; FAVARIN, J.L.; AZEVEDO, R.A.; ALLEONI, L.R. F.; MAZZAFERA, P. Coffee is highly tolerant to cádmium, nickel and zinc: plant and soil nutritional status, metal distribution and bean yield. **Field Crops Research**, v. 125, p. 24-34, 2012.
- U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, USDA. Acesso em: 12 de setembro de 2016.
- ZHENG, Q. L.; NAKATSUKA, A.; MATSUMOTO, T.; ITAMURA, H. Pre-harvest nickel application to the calyx of ‘Saijo’ persimmon fruit prolongs postharvest shelf-life. **Postharvest Biology and Technology**, v. 42, p. 98-103, 2006.
- ZUCARELI,C.; CIL,I. R.; PRETE, C. E. C.; PRANDO, A. M.; Eficiência Agronômica da Inoculação a Base de *Pseudomonas fluorescens* na Cultura do Milho. **Revista Agrarian**: v.4, n.13, p.152-157, 2011.